

## ImWilms10T Cells | 300419

## Allmän information

## Description

Cellinjen imWilms10T är en odödliggjord variant av den primära tumörcellinjen Wilms10T, som härrör från ett prov från en Wilms-tumör (nefroblastom) hos en pediatrik patient. Denna cellinje kännetecknas av en homozygot deletion av WT1-genen, vilket resulterar i en fullständig förlust av WT1-proteinets funktion. WT1 är en gen som är avgörande för njurarnas utveckling och dess deletion i imWilms10T återspeglar en allvarlig genetisk störning som är förknippad med patogenesen för Wilms tumör. Förutom WT1-deletionen uppvisar imWilms10T-cellerna förlust av heterozygoti (LOH) i kromosomregion 11p15, som inkluderar nyckelgener som IGF2, vilket bidrar till tumörens aggressiva beteende.

För att övervinna Wilms10T-cellernas begränsade livslängd etablerades cellinjen imWilms10T genom att införa en trippelmutant SV40 large T-antigen (U19dl89-97tsA58) i de ursprungliga tumörcellerna. Denna odödlighetsprocess gör det möjligt för imWilms10T-celler att föröka sig på obestämd tid med bibehållen kromosomstabilitet, vilket ger en tillförlitlig modell för långtidsstudier. ImWilms10T-cellerna bibehåller de kritiska egenskaperna hos Wilms10T-föräldralinjen, inklusive den fullständiga förlusten av WT1 och förekomsten av LOH vid 11p15, vilket gör dem till en ovärderlig resurs för att studera de molekylära konsekvenserna av WT1-deletion och de associerade tumörframkallande processerna.

imWilms10T-celler har studerats ingående för sin inblandning i viktiga signalvägar som driver tumörprogression. Proteomiska analyser har visat att dessa celler uppvisar fosforylering och aktivering av flera receptortyrosinkinaser (RTK), såsom IGF1R, PDGFR $\beta$  och AXL. Dessa aktiverade receptorer signalerar genom nedströmsvägar, inklusive MAPK- och PI3K/AKT-vägarna, som är avgörande för att upprätthålla cellernas maligna fenotyp. Cellinjen imWilms10T är ett viktigt verktyg för att undersöka effekterna av fullständig WT1-förlust på cellsignalering, tumörtillväxt och potentiella terapeutiska mål vid Wilms tumör, i synnerhet för mer aggressiva tumörtyper.

**Organism** Människan

**Tissue** Njurar

**Disease** Wilms tumör

**Synonyms** ImWilms10 T, IM-WT-10

## Egenskaper

**Age** 2 år

**Gender** Kvinna

**Ethnicity** Kaukasisk

**Morphology** Spindelformad

## ImWilms10T Celler | 300419

**Cell type** Wilms-celler

**Growth properties** Följsam

## Lagstadgade uppgifter

**Citation** ImWilms10T (Cytion katalognummer 300419)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_DF34

**Depositor** B. Royer-Pokora

**GMO Status** GMO-S1: Detta imWilms10T-derivat innehåller samma trippelmutanta SV40 T-antigen som möjliggör villkorlig immortalisering för pediatrik njurtumörbiologi. Denna klassificering gäller endast i Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.

## Biomolekylära data

**Mutational profile** WT1-mutationsstatus: homozygot del WT1 inom del11p13, LOH: ingen i 11p13 men UPD i 11p15, CTNNB1-mutationsstatus: homozygot del TCT, p.DS45, UPD 3p

## Hantering

**Culture Medium** MSCGM-kit (från Lonza)

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

**Fluid renewal** 1 till 2 gånger per vecka

## ImWilms10T Celler | 300419

### Freeze medium

Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid  $300 \times g$  i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befuktad atmosfär.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

**ImWilms10T Celler | 300419****Shipping  
Conditions**

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

**Storage  
Conditions**

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

**Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA****Sterility**

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasma diagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

**STR-profil**

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 11,12  
**D13S317:** 12,12  
**D16S539:** 9,10  
**D5S818:** 10,12  
**D7S820:** 11,12  
**TH01:** 8,6  
**TPOX:** 8,11  
**vWA:** 15,18  
**D3S1358:** 17,17  
**D21S11:** 29,30  
**D18S51:** 14,16  
**Penta E:** 7,10  
**Penta D:** 10,13  
**D8S1179:** 10,15  
**FGA:** 22,24

**HLA-alleler**

**A\*:** '01:01:01, '11:01:01  
**B\*:** '18:01:01, '27:05:02  
**C\*:** '01:02:01, '12:03:01  
**DRB1\*:** '01:01:01, '11:04:01  
**DQA1\*:** '01:01:01, '05:05:01  
**DQB1\*:** '03:01:01, '05:01:01  
**DPB1\*:** '04:01:01G, '04:02:01G  
**E:** '01:01:01