

## Wilms10T-celler | 300417

## Allmän information

## Description

Wilms10T-cellinjen härrör från ett primärt Wilms-tumörprov från en patient med Wilms-tumör, ett pediatrikt nefroblastom. Denna cellinje kännetecknas av en homozygot deletion av WT1-genen, vilket leder till en fullständig förlust av WT1-funktionen, en kritisk gen som är involverad i njurutvecklingen och upprätthållandet av normal njurdifferentiering. Till skillnad från många andra cellinjer för Wilms tumör saknar Wilms10T uttryck av WT1-protein, vilket återspeglar de allvarliga genetiska förändringar som förekommer i denna tumörsubtyp. Dessutom uppvisar cellinjen Wilms10T förlust av heterozygoti (LOH) i kromosomområdet 11p15, som omfattar viktiga gener som IGF2, vilket ytterligare bidrar till dess tumörframkallande egenskaper.

Wilms10T-celler har en stabil normal karyotyp utan några större kromosomala omarrangemang förutom den specifika deletionen av WT1-regionen. Denna cellinje har använts i stor utsträckning för att studera effekterna av fullständig WT1-förlust på tumörbiologin, inklusive dess inverkan på cellproliferation, differentiering och respons på olika signalvägar. Cellerna har mesenkymala egenskaper och uttrycker markörer som vimentin, medan de saknar epiteliala markörer som cytokeratin, vilket tyder på deras stromala ursprung.

Betydande forskning har fokuserat på de signalvägar som är aktiva i Wilms10T-celler. Proteomiska studier har visat att dessa celler uppvisar aktivering av flera receptortyrosinkinaser (RTK), t.ex. IGF1R, PDGFR $\beta$  och AXL, som är kända för att driva tumörutvecklingen. Dessutom aktiveras nedströms signalvägar, inklusive MAPK- och PI3K/AKT-vägarna, i Wilms10T-celler, vilket bidrar till deras aggressiva tumörfenotyp. Den omfattande karakteriseringen av Wilms10T gör den till en värdefull modell för att undersöka den molekylära bakgrunden till Wilms tumör med fullständig WT1-förlust, samt för att utforska potentiella terapeutiska mål i denna aggressiva tumörundertyp.

**Organism** Människan

**Tissue** Njurar

**Disease** Wilms tumör

**Applications** In vitro cellodlingsmodell och biokemiska studier

**Synonyms** Wilms10

## Egenskaper

**Age** 2 år

**Gender** Kvinna

**Ethnicity** Kaukasisk

**Morphology** Spindelformad

**Wilms10T-celler | 300417****Cell type** Wilms-celler**Growth properties** Följsam**Lagstadgade uppgifter****Citation** Wilms10T (Cytion katalognummer 300417)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SL**Depositor** B. Royer-Pokora**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**Doubling time** 46 timmar**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.**Seeding density**  $4 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup>

## Wilms10T-celler | 300417

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

### Freeze medium

Som kryokonservationsmedium 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-kulturlådar; 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

## Wilms10T-celler | 300417

### Freezing Procedure

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.

### 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

Mykoplasma kontaminering 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,y  
**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

**Wilms10T-celler | 300417**

**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