

**Wilms1 Cellen | 300411****Algemene informatie****Description**

De Wilms1-celijn is afgeleid van een primair Wilms-tumormonster van een patiënt met grote bilaterale niertumoren, wat wijst op Wilms tumor, een pediatrisch nefroblastoom. Deze celijn bevat een homozygote nonsensmutatie in het WT1-gen (c.149 C>A, p.S50X), die resulteert in een afgekapt en niet-functioneel WT1-eiwit. Het WT1-gen, dat cruciaal is voor de ontwikkeling en functie van de nier, is vaak gemuteerd in Wilms tumoren, vooral in die met een stromaal subtype dat ectopische mesenchymale differentiatie vertoont. Wilms1-cellen vormen daarom een uniek in vitro model voor het bestuderen van de gevolgen van functieverlies van WT1 in de tumorbiologie.

De Wilms1-celijn heeft een stabiel karyotype zonder significante chromosoomafwijkingen, waardoor een betrouwbare kweek op lange termijn mogelijk is. Deze cellen vertonen een mesenchymaal fenotype, gekenmerkt door de expressie van vimentine en de afwezigheid van epitheliale markers zoals cytokeratine, wat consistent is met hun stromale oorsprong. Daarnaast laat de celijn een beperkte maar opmerkelijke mesenchymale differentiatiecapaciteit zien, waaronder het vermogen om onder de juiste omstandigheden te differentiëren in spierachtige cellen. Dit maakt Wilms1 van onschatbare waarde voor het onderzoeken van de moleculaire mechanismen van mesenchymale differentiatie en de ontregeling ervan in de pathogenese van Wilms-tumoren.

Wilms1 is ook gebruikt om de activeringsstatus te bestuderen van belangrijke signaalwegen die betrokken zijn bij tumorgroei. Proteomische analyses hebben aangetoond dat Wilms1-cellen fosforylering en activering van verschillende receptor tyrosinekinasen vertonen, waaronder EGFR en PDGFR $\beta$ , evenals downstream MAPK-sigtaalroutes. Deze bevindingen benadrukken het belang van de Wilms1 celijn voor het onderzoeken van gerichte therapeutische benaderingen voor Wilms tumor door het ontleden van de rol van deze pathways in overleving, proliferatie en differentiatie van kankercellen.

**Organism** Mens**Tissue** Nieren**Applications** In vitro celkweekmodel. Biochemische onderzoeken**Synonyms** Wilms1-2l**Kenmerken****Age** 2 jaar**Gender** Vrouw**Ethnicity** Kaukasisch**Morphology** Spilvormig

**Wilms1 Cellen | 300411****Cell type** Wilms cellen**Growth properties** Aanhangend**Regelgevende gegevens****Citation** Wilms1 (Cytion catalogusnummer 300411)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SC**Depositor** B. Royer-Pokora**Biomoleculaire gegevens****Receptors expressed** Tyrosinekinasen van receptoren EGFR, EphA7, PDGFRalfa, FGFR1, PDGFRbeta, Axl**Tumorigenic** Ja, in naakte muizen. Vormt tumor met kleine cellen die overeenkomen met Wilms' tumor (xenograften vertegenwoordigen Wilms tumoren mogelijk niet volledig, zie E. Kuncz Stroup 2017)**Viruses** HIV-1: negatief, HBV: negatief, HCV: negatief**Mutational profile** WT1 mutatiestatus: homozygoot c. 149 C>A, p.S50x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutatiestatus: heterozygoot TCT>TTT, p.S45F**Karyotype** 46, normaal**Omgaan met****Culture Medium** MSCGM-kit (van Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 24 uur

## Wilms1 Cellen | 300411

**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  cellen/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 1 tot 2 keer per week

**Post-Thaw Recovery** Snel

**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

## Wilms1 Cellen | 300411

### Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij  $300 \times g$  om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , bevochtigde atmosfeer.

### Flask Coating

Geen

### Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

### Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

## Wilms1 Cellen | 300411

### Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

## Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

### Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

### STR profiel

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 10,12  
**D13S317:** 11,13  
**D16S539:** 11,14  
**D5S818:** 12,13,14  
**D7S820:** 9,14  
**TH01:** 9,3  
**TPOX:** 8,9  
**vWA:** 14,19  
**D3S1358:** 14,17,18  
**D21S11:** 30,31  
**D18S51:** 15,18  
**Penta E:** 5,14  
**Penta D:** 13  
**D8S1179:** 12,14  
**FGA:** 22,25

### HLA-allelen

**A\*:** '03:01:01, '24:02:01  
**B\*:** '35:03:01, '38:01:01  
**C\*:** '12:03:01  
**DRB1\*:** '07:01:01, '14:54:01  
**DQA1\*:** '01:04:01, '02:01:01  
**DQB1\*:** '02:02:01, '05:03:01  
**DPB1\*:** '02:01:02G, '04:02:01G  
**E:** '01:03:01, '01:03:02