

## Wilms2-cellen | 300413

## Algemene informatie

## Description

De Wilms2-cel lijn is afgeleid van een primaire Wilms-tumor van een pediatrische patiënt met een kiembaanmutatie op WT1. Deze cel lijn wordt gekenmerkt door een homozygote nonsensmutatie in het WT1-gen (c.1084 C>T, p.R362X), die resulteert in de productie van een afgekapte, niet-functioneel WT1-eiwit. Het verlies van functioneel WT1, een gen dat essentieel is voor de ontwikkeling van de nieren, is een kenmerk van bepaalde subtypes van Wilms tumor, met name die welke geassocieerd worden met mesenchymale of stromale differentiatie. De Wilms2 cel lijn is een belangrijk model voor het bestuderen van de tumorigene processen die gedreven worden door het verlies van WT1, vooral in de context van Wilms tumoren die andere kritieke genetische kenmerken behouden.

Wilms2-cellen dragen ook mutaties in het CTNNB1-gen, dat codeert voor  $\beta$ -Catenine, een belangrijk onderdeel van de Wnt-signaleringsroute. Deze mutaties, die specifiek van invloed zijn op serine 45, leiden tot de stabilisatie en accumulatie van  $\beta$ -Catenine, wat resulteert in de constitutieve activering van de Wnt signaalweg. Deze activering is een bekende aanjager van celproliferatie en tumorigenese in Wilms tumor, waardoor Wilms2 een waardevol model is om te begrijpen hoe afwijkende Wnt signalering bijdraagt aan de ontwikkeling en progressie van tumoren met WT1 mutaties.

Qua fenotype vertonen Wilms2-cellen een mesenchym-achtige morfologie, waarbij vimentine tot expressie komt en epitheliale markers zoals cytokeratine ontbreken. Dit komt overeen met de stromale kenmerken van de tumor en onderstreept de rol van WT1 in het reguleren van mesenchymale-epitheliale overgangen tijdens de ontwikkeling van de nier. Proteomische analyses van Wilms2 hebben activering van verschillende receptor tyrosine kinases (RTK's) geïdentificeerd, waaronder PDGFR $\beta$  en AXL, waarvan bekend is dat ze tumorceloverleving en -proliferatie ondersteunen. Daarnaast worden downstream pathways zoals MAPK en PI3K/AKT ook geactiveerd, wat verder bijdraagt aan de kwaadaardige eigenschappen van Wilms2-cellen.

Over het geheel genomen is de Wilms2 cel lijn een essentieel hulpmiddel voor het onderzoeken van de moleculaire mechanismen van Wilms tumoren die worden veroorzaakt door WT1-verlies en afwijkende Wnt-signalering. De genetische en fenotypische eigenschappen bieden een robuust platform voor het onderzoeken van potentiële therapeutische doelwitten en voor het begrijpen van de rol van belangrijke signaalwegen in de pathologie van Wilms tumoren met een mesenchymale component.

<b>Organism</b>	Mens
<b>Tissue</b>	Nieren
<b>Disease</b>	Wilms tumor

<b>Applications</b>	In vitro celkweekmodel. Biochemische onderzoeken
---------------------	--

## Kenmerken

<b>Age</b>	1 jaar
<b>Gender</b>	Mannelijk

**Wilms2-cellen | 300413****Ethnicity**      Kaukasisch**Morphology**      Spilvormig**Cell type**      Wilms cellen**Growth properties**      Aanhangend**Regelgevende gegevens****Citation**      Wilms2 (Cytion catalogusnummer 300413)**Biosafety level**      1**NCBI\_TaxID**      9606**CellosaurusAccession**      CVCL\_A5SE**Depositor**      B. Royer-Pokora**Biomoleculaire gegevens****Mutational profile**      WT1 mutatiestatus: homozygoot c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1 mutatiestatus: heterozygoot del TCT>TAT, p.S45Y**Omgaan met****Culture Medium**      MSCGM-kit (van Lonza)**Dissociation Reagent**      Accutase**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.

## Wilms2-cellen | 300413

### Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (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.

### 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

$37^{\circ}\text{C}$ , 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.

## Wilms2-cellen | 300413

### Shipping Conditions

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

### 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,y  
**CSF1PO:** 11,11  
**D13S317:** 9,11  
**D16S539:** 9,9  
**D5S818:** 11,11  
**D7S820:** 10,11  
**TH01:** 6,6  
**TPOX:** 8,11  
**vWA:** 15,19  
**D3S1358:** 15,15  
**D21S11:** 29,32.2  
**D18S51:** 12,17  
**Penta E:** 11,15  
**Penta D:** 10,12  
**D8S1179:** 14,16  
**FGA:** 21,21

### HLA-allelen

**A\*:** '01:01:01, '02:01:01  
**B\*:** '15:01:01, '57:01:01  
**C\*:** '03:03:01, '07:01:01  
**DRB1\*:** '04:01:01, '07:01:01  
**DQA1\*:** '02:01:01, '03:01:01  
**DQB1\*:** '03:02:01, '03:03:02  
**DPB1\*:** '04:01:01G, '04:02:01G  
**E:** '01:01:01, '01:03:02