

## Wilms2-celler | 300413

## Allmän information

## Description

Wilms2-cellinjen härrör från en primär Wilms-tumör hos en pediatrik patient med en WT1-mutation i arvsmassan. Denna cellinje kännetecknas av en homozygot nonsensmutation i WT1-genen (c.1084 C>T, p.R362X), vilket resulterar i produktion av ett trunkeerat, icke-funktionellt WT1-protein. Förlusten av funktionellt WT1, en gen som är viktig för njurarnas utveckling, är ett kännetecken för vissa subtyper av Wilms tumör, särskilt de som är förknippade med mesenkymal eller stromal differentiering. Wilms2-cellinjen är en viktig modell för att studera de tumörframkallande processer som drivs av WT1-förlusten, särskilt i samband med Wilms-tumörer som har kvar andra kritiska genetiska egenskaper.

Wilms2-cellerna bär också på mutationer i CTNNB1-genen, som kodar för  $\beta$ -Catenin, en nyckelkomponent i Wnt-signalvägen. Dessa mutationer, som specifikt påverkar serin 45, leder till stabilisering och ackumulering av  $\beta$ -Catenin, vilket resulterar i en konstitutiv aktivering av Wnt-signalvägen. Denna aktivering är en känd drivkraft för cellproliferation och tumörutveckling i Wilms tumör, vilket gör Wilms2 till en värdefull modell för att förstå hur avvikande Wnt-signaler bidrar till utveckling och progression av tumörer med WT1-mutationer.

När det gäller fenotyp uppvisar Wilms2-celler en mesenkymalliknande morfologi, uttrycker vimentin och saknar epitelmarkörer som cytokeratin. Detta överensstämmer med tumörens stromala egenskaper och understryker WT1:s roll i regleringen av mesenkymal-epiteliala övergångar under njurutvecklingen. Proteomiska analyser av Wilms2 har identifierat aktivering av flera receptortyrosinkinaser (RTK), inklusive PDGFR $\beta$  och AXL, som är kända för att stödja tumörcellernas överlevnad och spridning. Dessutom aktiveras även nedströmsvägar som MAPK och PI3K/AKT, vilket ytterligare bidrar till Wilms2-cellernas maligna egenskaper.

Sammantaget fungerar Wilms2-cellinjen som ett viktigt verktyg för att utforska de molekylära mekanismerna för Wilms-tumörer som drivs av WT1-förlust och avvikande Wnt-signaler. Dess genetiska och fenotypiska egenskaper utgör en robust plattform för att undersöka potentiella terapeutiska mål och för att förstå vilken roll viktiga signalvägar spelar i patogen hos Wilms-tumörer med en mesenkymal komponent.

**Organism** Människan

**Tissue** Njurar

**Disease** Wilms tumör

**Applications** In vitro cellodlingsmodell. Biokemiska studier

## Egenskaper

**Age** 1 år

**Gender** Man

**Ethnicity** Kaukasisk

**Morphology** Spindelformad

## Wilms2-celler | 300413

<b>Cell type</b>	Wilms-celler
------------------	--------------

<b>Growth properties</b>	Följsam
--------------------------	---------

## Lagstadgade uppgifter

<b>Citation</b>	Wilms2 (Cytion katalognummer 300413)
-----------------	--------------------------------------

<b>Biosafety level</b>	1
------------------------	---

<b>NCBI_TaxID</b>	9606
-------------------	------

<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_A5SE
-----------------------------	-----------

<b>Depositor</b>	B. Royer-Pokora
------------------	-----------------

## Biomolekylära data

<b>Mutational profile</b>	WT1-mutationsstatus: homozygot c.149 C>A, p.R326x, LOH: 11p11-11pter, CTNNB1-mutationsstatus: heterozygot del TCT>TAT, p.S45Y
---------------------------	---

## Hantering

<b>Culture Medium</b>	MSCGM-kit (från Lonza)
-----------------------	------------------------

<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
-----------------------------	----------

<b>Subculturing</b>	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.
---------------------	---

<b>Freeze medium</b>	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.
----------------------	--

## Wilms2-celler | 300413

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfrysad 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.

### Shipping Conditions

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.

## Wilms2-celler | 300413

### 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 mykoplasmadiagnostik.

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:** 11,11  
**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-alleler

**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