

Cellules Wilms1 | 300411

Informations générales

Description

La lignée cellulaire Wilms1 a été dérivée d'un échantillon primaire de tumeur de Wilms prélevé sur un patient présentant de grandes tumeurs rénales bilatérales, indiquant une tumeur de Wilms, un néphroblastome pédiatrique. Cette lignée cellulaire est porteuse d'une mutation homozygote non-sens dans le gène WT1 (c.149 C>A, p.S50X), qui se traduit par une protéine WT1 tronquée et non fonctionnelle. Le gène WT1, essentiel au développement et à la fonction du rein, est fréquemment muté dans les tumeurs de Wilms, en particulier dans celles dont le sous-type stromal présente une différenciation mésenchymateuse ectopique. Les cellules Wilms1 représentent donc un modèle in vitro unique pour étudier les conséquences de la perte de fonction de WT1 dans la biologie des tumeurs.

La lignée cellulaire Wilms1 présente un caryotype stable sans anomalie chromosomique significative, ce qui permet une culture fiable à long terme. Ces cellules présentent un phénotype mésenchymateux, caractérisé par l'expression de la vimentine et l'absence de marqueurs épithéliaux tels que la cytokératine, ce qui est cohérent avec leur origine stromale. En outre, la lignée cellulaire présente une capacité de différenciation mésenchymateuse limitée mais notable, y compris la capacité de se différencier en cellules de type musculaire dans des conditions appropriées. Cela fait de Wilms1 un outil précieux pour l'étude des mécanismes moléculaires de la différenciation mésenchymateuse et de sa dérégulation dans la pathogenèse des tumeurs de Wilms.

Wilms1 a également été utilisé pour étudier l'état d'activation des principales voies de signalisation impliquées dans la progression tumorale. Des analyses protéomiques ont montré que les cellules Wilms1 présentent une phosphorylation et une activation de plusieurs récepteurs tyrosine kinases, notamment l'EGFR et le PDGFR β , ainsi que des voies de signalisation MAPK en aval. Ces résultats soulignent l'importance de la lignée cellulaire Wilms1 dans l'exploration d'approches thérapeutiques ciblées pour la tumeur de Wilms en disséquant le rôle de ces voies dans la survie, la prolifération et la différenciation des cellules cancéreuses.

Organism Humain

Tissue Rein

Applications Modèle de culture cellulaire in vitro. Études biochimiques

Synonyms Wilms1-2l

Caractéristiques

Age 2 ans

Gender Femme

Ethnicity Caucasien

Morphology En forme de fuseau

Cellules Wilms1 | 300411**Cell type** Cellules de Wilms**Growth properties** Adhérent**Données réglementaires****Citation** Wilms1 (numéro de catalogue Cytion 300411)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SC**Depositor** B. Royer-Pokora**Données biomoléculaires****Receptors expressed** Récepteurs tyrosine kinases EGFR, EphA7, PDGFRalpha, FGFR1, PDGFRbeta, AxL**Tumorigenic** Oui, chez la souris nude. Forme une tumeur avec de petites cellules correspondant à la tumeur de Wilms (les xénogreffes peuvent ne pas représenter complètement les tumeurs de Wilm, voir E. Kuncz Stroup 2017)**Viruses** VIH-1 : négatif, VHB : négatif, VHC : négatif**Mutational profile** Statut de la mutation WT1 : homozygote c. 149 C>A, p.S50x, LOH : 11p11-11pter, statut de la mutation CTNNB1 : hétérozygote TCT>TTT, p.S45F**Karyotype** 46, normal**Manipulation****Culture Medium** Kit MSCGM (de Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 24 heures

Cellules Wilms1 | 300411

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Seeding density 1×10^4 cellules/cm²

Fluid renewal 1 à 2 fois par semaine

Post-Thaw Recovery Rapide

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules Wilms1 | 300411

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules Wilms1 | 300411

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Profil STR

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

Allèles HLA

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