

Cellules Wilms3 | 300414

Informations générales

Description

La lignée cellulaire Wilms3 a été établie à partir d'une tumeur de Wilms primaire chez un patient pédiatrique, caractérisée par une mutation somatique du gène WT1. Contrairement à de nombreuses autres lignées cellulaires de tumeurs de Wilms, Wilms3 présente une mutation hétérozygote par déplacement de cadre dans le gène WT1 (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), qui entraîne la production d'une protéine WT1 tronquée. Cette perte partielle de la fonction WT1 est associée au développement de tumeurs présentant un phénotype stromal ou mésenchymateux. Cependant, la mutation WT1 dans Wilms3 n'est pas homozygote, ce qui ajoute de la complexité à son étude, car elle conserve une certaine fonction WT1 qui peut influencer la biologie des tumeurs différemment par rapport aux lignées cellulaires avec une perte complète de WT1.

Wilms3 porte également une mutation dans le gène CTNNB1, affectant spécifiquement la thréonine 41 (p.T41A), qui joue un rôle critique dans la voie de signalisation Wnt. Cette mutation stabilise la β -Caténine, empêchant sa dégradation et conduisant à l'activation constitutive de la voie Wnt. L'activation persistante de la signalisation Wnt entraîne la prolifération cellulaire et contribue à la tumorigénèse dans le Wilms3, ce qui en fait un modèle clé pour l'étude de l'impact des mutations CTNNB1 dans le contexte d'un fond WT1 partiellement fonctionnel.

Sur le plan phénotypique, les cellules Wilms3 présentent une morphologie de type mésenchymateuse, exprimant la vimentine et manquant de cytokératine, ce qui correspond aux caractéristiques stromales observées dans la tumeur d'origine. Ces cellules présentent un potentiel de différenciation limité, avec la capacité de subir une différenciation mésenchymateuse dans des conditions spécifiques. Les analyses protéomiques de Wilms3 ont révélé l'activation de plusieurs récepteurs tyrosine kinases (RTK), dont le PDGFR β et l'AXL, qui favorisent la survie et la prolifération des cellules. En outre, les voies de signalisation en aval, telles que MAPK et PI3K/AKT, sont activées, ce qui renforce les propriétés malignes des cellules Wilms3.

Un aspect unique de Wilms3 est sa fonctionnalité WT1 partielle, ce qui offre une perspective distincte sur la façon dont les mutations WT1 contribuent à la biologie de la tumeur de Wilms lorsque la mutation n'est pas complète. L'interaction entre WT1 et la signalisation Wnt dans Wilms3 offre une occasion précieuse d'étudier les rôles nuancés que ces voies jouent dans le développement des tumeurs. Dans l'ensemble, Wilms3 constitue un modèle important pour l'étude des mécanismes moléculaires qui sous-tendent la tumeur de Wilms en présence d'une perte partielle de WT1 et d'une activation constitutive de la voie Wnt.

Organism Humain

Tissue Rein

Disease Tumeur de Wilms

Applications Modèle de culture cellulaire in vitro. Études biochimiques

Caractéristiques

Age 11-12 mois

Gender Homme

Cellules Wilms3 | 300414**Ethnicity** Caucasien**Morphology** En forme de fuseau**Cell type** Cellules de Wilms**Growth properties** Adhérent**Données réglementaires****Citation** Wilms3 (numéro de catalogue Cytion 300414)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SF**Depositor** B. Royer-Pokora**Données biomoléculaires****Mutational profile** Statut de la mutation WT1 : homozygote c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH : 11p11-11pter, Statut de la mutation CTNNB1 : type sauvage**Manipulation****Culture Medium** Kit MSCGM (de Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**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.

Cellules Wilms3 | 300414

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.

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 continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Cellules Wilms3 | 300414

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.

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,y
CSF1PO: 11,12
D13S317: 12,13
D16S539: 9,11
D5S818: 9,9
D7S820: 10,11
TH01: 6,6
TPOX: 8,8
vWA: 16,17
D3S1358: 15,16
D21S11: 29,31
D18S51: 13,17
Penta E: 7,10
Penta D: 9,13
D8S1179: 10,11
FGA: 22,24

Cellules Wilms3 | 300414

Allèles HLA

A*: '03:01:01
B*: '35:01:01, '35:03:01
C*: '04:01:01
DRB1*: '04:03:01, '11:04:01
DQA1*: '03:01:01, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '03:02:01
DPB1*: '01:01:01, '04:01:01
E: '01:03:02, '01:06:01