

Cellules ImWilms10T | 300419

Informations générales

Description

La lignée cellulaire imWilms10T est une variante immortalisée de la lignée cellulaire tumorale primaire Wilms10T, dérivée d'un échantillon de tumeur de Wilms (néphroblastome) d'un patient pédiatrique. Cette lignée cellulaire se distingue par une délétion homozygote du gène WT1, qui entraîne une perte totale de la fonction de la protéine WT1. WT1 est un gène crucial pour le développement du rein, et sa délétion dans imWilms10T reflète une perturbation génétique grave associée à la pathogenèse de la tumeur de Wilms. Outre la délétion de WT1, les cellules imWilms10T présentent une perte d'hétérozygotie (LOH) dans la région chromosomique 11p15, qui comprend des gènes clés tels que l'IGF2, contribuant au comportement agressif de la tumeur.

Pour pallier la durée de vie limitée des cellules Wilms10T, la lignée cellulaire imWilms10T a été créée en introduisant un triple mutant de l'antigène SV40 large T (U19dl89-97tsA58) dans les cellules tumorales d'origine. Ce processus d'immortalisation permet aux cellules imWilms10T de proliférer indéfiniment tout en conservant une stabilité chromosomique, fournissant ainsi un modèle fiable pour les études à long terme. Les cellules imWilms10T conservent les caractéristiques essentielles de la lignée Wilms10T parentale, notamment la perte complète de WT1 et la présence d'une LOH à 11p15, ce qui en fait une ressource inestimable pour l'étude des conséquences moléculaires de la délétion de WT1 et des processus tumorigènes associés.

les cellules imWilms10T ont été largement étudiées pour leur implication dans les voies de signalisation clés qui régissent la progression tumorale. Les analyses protéomiques ont révélé que ces cellules présentent une phosphorylation et une activation de plusieurs récepteurs tyrosine kinases (RTK), tels que IGF1R, PDGFR β et AXL. Ces récepteurs activés signalent les voies en aval, y compris les voies MAPK et PI3K/AKT, qui sont cruciales pour le maintien du phénotype malin des cellules. La lignée cellulaire imWilms10T constitue un outil important pour étudier l'impact de la perte complète de WT1 sur la signalisation cellulaire, la croissance tumorale et les cibles thérapeutiques potentielles dans la tumeur de Wilms, en particulier pour les sous-types de tumeurs les plus agressifs.

Organism Humain

Tissue Rein

Disease Tumeur de Wilms

Synonyms ImWilms10 T, IM-WT-10

Caractéristiques

Age 2 ans

Gender Femme

Ethnicity Caucasien

Morphology En forme de fuseau

Cellules ImWilms10T | 300419**Cell type** Cellules de Wilms**Growth properties** Adhérent**Données réglementaires****Citation** ImWilms10T (numéro de catalogue Cytion 300419)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_DF34**Depositor** B. Royer-Pokora**GMO Status** OGM-S1 : Ce dérivé imWilms10T contient le même antigène T SV40 triple mutant permettant une immortalisation conditionnelle pour la biologie des tumeurs rénales pédiatriques. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut différer dans d'autres pays.**Données biomoléculaires****Mutational profile** Statut de la mutation WT1 : homozygote del WT1 dans del11p13, LOH : pas dans 11p13 mais UPD dans 11p15, statut de la mutation CTNNB1 : homozygote del TCT, p.DS45, UPD 3p**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 ImWilms10T | 300419

Fluid renewal 1 à 2 fois par semaine

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

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , atmosphère humidifiée.

Flask Coating Aucun

Cellules ImWilms10T | 300419

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,x
CSF1PO: 11,12
D13S317: 12,12
D16S539: 9,10
D5S818: 10,12
D7S820: 11,12
TH01: 8,6
TPOX: 8,11
vWA: 15,18
D3S1358: 17,17
D21S11: 29,30
D18S51: 14,16
Penta E: 7,10
Penta D: 10,13
D8S1179: 10,15
FGA: 22,24

Cellules ImWilms10T | 300419

Allèles HLA

A*: '01:01:01, '11:01:01

B*: '18:01:01, '27:05:02

C*: '01:02:01, '12:03:01

DRB1*: '01:01:01, '11:04:01

DQA1*: '01:01:01, '05:05:01

DQB1*: '03:01:01, '05:01:01

DPB1*: 04:01:01G, 04:02:01G

E: '01:01:01