

Cellules Wilms10T | 300417

Informations générales

Description

La lignée cellulaire Wilms10T a été dérivée d'un échantillon primaire de tumeur de Wilms prélevé sur un patient atteint de tumeur de Wilms, un néphroblastome pédiatrique. Cette lignée cellulaire se caractérise par une délétion homozygote du gène WT1, entraînant une perte totale de la fonction WT1, un gène critique impliqué dans le développement du rein et le maintien d'une différenciation rénale normale. Contrairement à de nombreuses autres lignées cellulaires de tumeurs de Wilms, Wilms10T ne présente aucune expression de la protéine WT1, ce qui reflète les graves altérations génétiques présentes dans ce sous-type de tumeur. En outre, la lignée cellulaire Wilms10T présente une perte d'hétérozygotie (LOH) dans la région chromosomique 11p15, qui comprend des gènes importants comme IGF2, ce qui contribue encore à ses propriétés tumorigènes.

Les cellules Wilms10T ont un caryotype normal stable sans réarrangement chromosomique majeur en dehors de la délétion spécifique de la région WT1. Cette lignée cellulaire a été largement utilisée pour étudier les effets de la perte complète de la région WT1 sur la biologie des tumeurs, y compris son impact sur la prolifération cellulaire, la différenciation et la réponse à diverses voies de signalisation. Les cellules conservent des caractéristiques mésenchymateuses, exprimant des marqueurs tels que la vimentine, tout en étant dépourvues de marqueurs épithéliaux tels que la cytokératine, ce qui indique leur origine stromale.

D'importantes recherches se sont concentrées sur les voies de signalisation actives dans les cellules Wilms10T. Des études protéomiques ont démontré que ces cellules présentent une activation de plusieurs récepteurs tyrosine kinases (RTK) tels que IGF1R, PDGFR β et AXL, connus pour leur rôle dans la tumorigenèse. En outre, les voies de signalisation en aval, notamment les voies MAPK et PI3K/AKT, sont activées dans les cellules Wilms10T, ce qui contribue à leur phénotype tumoral agressif. La caractérisation complète de Wilms10T en fait un modèle précieux pour l'étude des fondements moléculaires de la tumeur de Wilms avec perte complète de WT1, ainsi que pour l'exploration de cibles thérapeutiques potentielles dans ce sous-type de tumeur agressive.

Organism Humain

Tissue Rein

Disease Tumeur de Wilms

Applications Modèle de culture cellulaire in vitro et études biochimiques

Synonyms Wilms10

Caractéristiques

Age 2 ans

Gender Femme

Ethnicity Caucasien

Cellules Wilms10T | 300417

Morphology En forme de fuseau

Cell type Cellules de Wilms

Growth properties Adhérent

Données réglementaires

Citation Wilms10T (numéro de catalogue Cytion 300417)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SL

Depositor B. Royer-Pokora

Données biomoléculaires

Mutational profile Statut de la mutation WT1 : homozygote del WT1 dans del11p13. LOH : pas de LOH en 11p13 mais UPD en 11p15. Statut mutationnel de CTNNB1 : homozygote del TCT, p.DS45, UPD 3p

Manipulation

Culture Medium Kit MSCGM (de Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 46 heures

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 Wilms10T | 300417

Seeding density 4 x 10⁴ cellules/cm²

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% CO₂, atmosphère humidifiée.

Cellules Wilms10T | 300417

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.

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: 12,12
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 Wilms10T | 300417

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