

cellules imWilms1 | 300412

Informations générales

Description

La lignée cellulaire Wilms1 a été dérivée à l'origine d'une tumeur de Wilms primaire, obtenue à partir d'un patient chez qui on a diagnostiqué de grandes tumeurs rénales bilatérales, une présentation caractéristique de la tumeur de Wilms (néphroblastome). Cette lignée cellulaire est porteuse d'une mutation homozygote non-sens dans le gène WT1 (c.149 C>A, p.S50X), qui entraîne la production d'une protéine WT1 tronquée et non fonctionnelle. WT1 est un gène critique dans le développement du rein, et sa mutation est étroitement associée à la pathogenèse de la tumeur de Wilms, en particulier dans les tumeurs présentant une différenciation stromale. Les cellules Wilms1 présentent un caryotype stable sans anomalie chromosomique significative et se caractérisent par un phénotype mésenchymateux, exprimant la vimentine tout en étant dépourvues de marqueurs épithéliaux tels que la cytokératine. La lignée présente une capacité limitée mais significative de différenciation mésenchymateuse, y compris le potentiel de différenciation en cellules musculaires dans des conditions spécifiques, ce qui en fait un modèle crucial pour l'étude des conséquences moléculaires des mutations WT1.

Pour surmonter la durée de vie limitée des cellules Wilms1 primaires, la lignée cellulaire imWilms1 a été établie en introduisant un triple mutant de l'antigène SV40 large T (U19dl89-97tsA58) dans les cellules tumorales d'origine, facilitant ainsi leur immortalisation. Cette modification permet aux cellules imWilms1 de proliférer indéfiniment tout en conservant une stabilité chromosomique, offrant ainsi un modèle fiable pour des études à long terme. Les cellules imWilms1 immortalisées continuent à présenter la même mutation WT1 et conservent les caractéristiques mésenchymateuses de la lignée Wilms1 mère.

Outre ses caractéristiques génétiques et phénotypiques, la lignée cellulaire imWilms1 a fait l'objet d'une analyse approfondie de l'activité de ses voies de signalisation. Des études protéomiques ont révélé la phosphorylation et l'activation de plusieurs récepteurs tyrosine kinases (RTK), notamment l'EGFR, le PDGFR β et l'AXL, avec une activation en aval des voies de signalisation MAPK. L'activation constante de ces voies dans les cellules imWilms1 souligne leur importance pour l'exploration de stratégies thérapeutiques ciblées dans la tumeur de Wilms. Dans l'ensemble, imWilms1 constitue un modèle robuste et à long terme pour l'étude des mécanismes moléculaires qui sous-tendent le développement et la progression des tumeurs de Wilms, en particulier celles qui sont induites par des mutations de WT1 et des voies de signalisation aberrantes.

Organism Humain

Tissue Rein

Disease Tumeur de Wilms

Synonyms IM-WT-1

Caractéristiques

Age 10 mois

Gender Femme

cellules imWilms1 | 300412**Ethnicity** Caucasien**Morphology** En forme de fuseau**Cell type** Cellules de Wilms**Growth properties** Adhérent**Données réglementaires****Citation** imWilms1 (numéro de catalogue Cytion 300412)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SN**Depositor** B. Royer-Pokora**GMO Status** OGM-S1 : Cette lignée de tumeur de Wilms humaine imWilms1 contient une cassette d'antigène T SV40 triple mutant permettant une immortalisation conditionnelle pour la recherche sur les néphroblastomes. Cette classification ne s'applique qu'à l'Allemagne et peut différer dans d'autres pays.**Données biomoléculaires****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**Manipulation****Culture Medium** Kit MSCGM (de Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase

cellules imWilms1 | 300412

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.

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.

cellules imWilms1 | 300412

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

Flask Coating Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

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.

cellules imWilms1 | 300412

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