

Cellules Wilms11 | 300420

Informations générales

Description

La lignée cellulaire Wilms11 a été dérivée d'une tumeur de Wilms primaire (néphroblastome) chez un patient pédiatrique. Contrairement à de nombreuses autres lignées cellulaires de tumeurs de Wilms, Wilms11 se caractérise par la présence de WT1 de type sauvage, c'est-à-dire qu'elle n'héberge pas de mutations dans le gène WT1, ce qui est généralement associé à des tumeurs de Wilms présentant des phénotypes plus agressifs ou stromaux. Cependant, la tumeur Wilms11 présentait une différenciation stromale significative, avec de larges zones de différenciation rhabdomyomateuse, indiquant la présence d'éléments mésenchymateux dans la tumeur. La présence de WT1 de type sauvage, associée à la différenciation stromale de la tumeur, fournit un modèle unique pour comprendre la biologie de la tumeur de Wilms dans les cas où les mutations de WT1 sont absentes.

Les études génétiques de Wilms11 ont montré que cette lignée cellulaire porte une mutation spécifique de la tumeur dans CTNNB1, le gène codant pour la β -Caténine, qui joue un rôle crucial dans la voie de signalisation Wnt. Dans le cas de Wilms11, cette mutation affecte la sérine 45, un site de phosphorylation clé impliqué dans la dégradation de la β -Caténine. La mutation CTNNB1 entraîne la stabilisation de la β -Caténine, ce qui conduit à son accumulation et à l'activation constitutive de la voie de signalisation Wnt, moteur de la prolifération cellulaire et de la tumorigénèse. Cela fait de Wilms11 un modèle important pour l'étude de l'interaction entre la signalisation Wnt et le développement des tumeurs de Wilms, en particulier dans les cas où WT1 reste intact.

Les analyses protéomiques de Wilms11 ont révélé l'activation de plusieurs récepteurs tyrosine kinases (RTK), dont le PDGFR β et l'AXL, qui sont impliqués dans la croissance et la survie des cellules tumorales. Les voies de signalisation en aval, telles que les voies MAPK et PI3K/AKT, sont également activées dans les cellules Wilms11, contribuant à leur comportement tumorigène. La capacité des cellules Wilms11 à subir une différenciation mésenchymateuse, en particulier une différenciation rhabdomyomateuse, souligne leur potentiel en tant que modèle pour l'étude des composants mésenchymateux de la tumeur de Wilms. Dans l'ensemble, Wilms11 est un outil précieux pour étudier les mécanismes moléculaires qui conduisent à la tumorigénèse de Wilms en l'absence de mutations WT1 mais dans le contexte de l'activation de la voie Wnt.

Organism Humain

Tissue Rein

Disease Tumeur de Wilms

Applications Modèle de culture cellulaire in vitro. Études biochimiques

Caractéristiques

Age 22 mois

Gender Homme

Ethnicity Caucasien

Cellules Wilms11 | 300420**Morphology** En forme de fuseau**Cell type** Cellules de Wilms**Growth properties** Adhérent**Données réglementaires****Citation** Wilms11 (numéro de catalogue Cytion 300420)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SM**Depositor** B. Royer-Pokora**Données biomoléculaires****Mutational profile** Statut mutationnel WT1 : homozygote WT1 c.901c>T, p.R301x. LOH : . Statut mutationnel 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 Wilms11 | 300420

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 Wilms11 | 300420

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: 10,12
D13S317: 12,12
D16S539: 11,12
D5S818: 12,13
D7S820: 8,9
TH01: 6,6
TPOX: 9,11
vWA: 17,18
D3S1358: 15,17
D21S11: 29,30
D18S51: 14,21
Penta E: 5,7
Penta D: 11,11
D8S1179: 13,13
FGA: 23,26