

Cellules de Wilms2 | 300413

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire Wilms2 a été dérivée d'une tumeur de Wilms primaire chez un patient pédiatrique présentant une mutation germinale du gène WT1. Cette lignée cellulaire se caractérise par une mutation non-sens homozygote du gène WT1 (c.1084 C>T, p.R362X), qui entraîne la production d'une protéine WT1 tronquée et non fonctionnelle. La perte de la fonction du gène WT1, essentiel au développement rénal, est une caractéristique distinctive de certains sous-types de tumeurs de Wilms, en particulier ceux associés à une différenciation mésenchymateuse ou stromale. La lignée cellulaire Wilms2 constitue un modèle important pour l'étude des processus tumorigènes induits par la perte de WT1, en particulier dans le contexte des tumeurs de Wilms qui conservent d'autres caractéristiques génétiques essentielles.

Les cellules Wilms2 portent également des mutations dans le gène CTNNB1, qui code pour la β -caténine, un composant clé de la voie de signalisation Wnt. Ces mutations, qui touchent spécifiquement la sérine 45, entraînent la stabilisation et l'accumulation de la β -caténine, ce qui se traduit par l'activation constitutive de la voie Wnt. Cette activation est un facteur connu de la prolifération cellulaire et de la tumorigénèse dans la tumeur de Wilms, ce qui fait de Wilms2 un modèle précieux pour comprendre comment une signalisation Wnt aberrante contribue au développement et à la progression des tumeurs présentant des mutations du gène WT1.

Sur le plan phénotypique, les cellules Wilms2 présentent une morphologie de type mésenchymateuse, exprimant la vimentine et dépourvues de marqueurs épithéliaux tels que la cytokératine. Cela correspond aux caractéristiques stromales de la tumeur et souligne le rôle de WT1 dans la régulation des transitions mésenchymato-épithéliales au cours du développement rénal. Les analyses protéomiques de Wilms2 ont mis en évidence l'activation de plusieurs récepteurs tyrosine-kinases (RTK), notamment le PDGFR β et l'AXL, connus pour favoriser la survie et la prolifération des cellules tumorales. De plus, des voies en aval telles que MAPK et PI3K/AKT sont également activées, ce qui contribue davantage aux propriétés malignes des cellules Wilms2.

Dans l'ensemble, la lignée cellulaire Wilms2 constitue un outil essentiel pour l'étude des mécanismes moléculaires de la tumeur de Wilms, qui résulte d'une perte de WT1 et d'une signalisation Wnt aberrante. Ses caractéristiques génétiques et phénotypiques offrent une plateforme solide pour l'étude de cibles thérapeutiques potentielles et pour la compréhension du rôle des voies de signalisation clés dans la pathologie des tumeurs de Wilms présentant une composante mésenchymateuse.

Organism

Humain

Tissue

Rein

Disease

Tumeur de Wilms

Applications

Modèle de culture cellulaire in vitro. Études biochimiques

Caractéristiques

Age

1 an

Gender

Homme

Cellules de Wilms2 | 300413**Ethnicity** caucasien**Morphology** En forme de fuseau**Cell type** cellules de Wilms**Growth properties** Adeptes**Données réglementaires****Citation** Wilms2 (numéro de catalogue Cytion 300413)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SE**Données biomoléculaires****Mutational profile** Statut mutationnel du gène WT1 : homozygote c.149 C>A, p.R326x, LOH : 11p11-11pter; statut mutationnel du gène CTNNB1 : hétérozygote del TCT>TAT, p.S45Y**Manipulation****Culture Medium** Trousse MSCGM (de Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Cellules de Wilms2 | 300413

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO₂, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules de Wilms2 | 300413

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.