

Cellules de Wilms8 | 300416

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire Wilms8 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 dans le gène WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), entraînant une perte complète de la fonction de WT1. Le gène WT1 est essentiel au développement normal du rein, et son inactivation est une caractéristique courante de certains sous-types agressifs de tumeurs de Wilms, en particulier ceux qui présentent une différenciation mésenchymateuse. Wilms8 constitue donc un modèle précieux pour étudier les effets de la perte de WT1 sur la tumorigenèse, en particulier dans le contexte des tumeurs de Wilms présentant une composante stromale marquée.

En plus de la mutation du gène WT1, les cellules Wilms8 présentent une mutation du gène CTNNB1 (p.S45A), qui code pour la β -caténine, un régulateur clé de la voie de signalisation Wnt. La mutation au niveau de la sérine 45 perturbe le processus normal de phosphorylation qui conduit à la dégradation de la β -caténine, entraînant sa stabilisation et son accumulation dans le noyau. Il en résulte une activation constitutive de la voie de signalisation Wnt, qui stimule la prolifération cellulaire et contribue aux propriétés oncogéniques de la lignée cellulaire Wilms8. L'interaction entre la perte de WT1 et la signalisation Wnt aberrante dans Wilms8 en fait un modèle crucial pour comprendre les mécanismes moléculaires sous-jacents à ces voies dans la biologie de la tumeur de Wilms.

Les cellules Wilms8 présentent un phénotype mésenchymateux, caractérisé par l'expression de la vimentine et l'absence de marqueurs épithéliaux tels que la cytokératine. Cela correspond à la différenciation stromale observée dans la tumeur d'origine. Les cellules démontrent une capacité limitée à subir une différenciation mésenchymateuse plus poussée, comme la formation de cellules de type musculaire dans des conditions spécifiques. Les analyses protéomiques de Wilms8 ont révélé l'activation de plusieurs récepteurs de tyrosine kinase (RTK), notamment le PDGFR β et l'AXL, qui interviennent dans des processus clés tels que la survie, la migration et la prolifération cellulaires. L'activation des voies de signalisation en aval, en particulier les voies MAPK et PI3K/AKT, contribue davantage aux caractéristiques agressives des cellules Wilms8.

Dans l'ensemble, la lignée cellulaire Wilms8 constitue un outil essentiel pour étudier les fondements moléculaires de la tumeur de Wilms, qui résulte d'une perte de WT1 et d'une signalisation Wnt aberrante. Ses caractéristiques génétiques et phénotypiques en font une plateforme robuste pour étudier l'interaction entre ces voies critiques et pour identifier des cibles thérapeutiques potentielles dans les tumeurs de Wilms présentant une composante stromale.

Organism

Humain

Tissue

Rein

Disease

Tumeur de Wilms

Applications

Modèle de culture cellulaire in vitro. Études biochimiques

Caractéristiques

Age

8 mois

Cellules de Wilms8 | 300416

Gender	Homme
Ethnicity	caucasien
Morphology	En forme de fuseau
Cell type	cellules de Wilms
Growth properties	Adeptes

Données réglementaires

Citation	Wilms8 (numéro de catalogue Cytion 300416)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A5SJ

Données biomoléculaires

Mutational profile	Statut de la mutation WT1 : homozygote c.1168C>T, p.390x, LOH : , statut de la mutation CTNNB1 : hétérozygote TCT>GCT, p.S45A
---------------------------	---

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 Wilms8 | 300416

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 Wilms8 | 300416

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.