Wilms3

300414

INFORMATIONS GÉNÉRALES

Description

La lignée cellulaire Wilms3 a été établie à partir d'une tumeur de Wilms primaire chez un patient pédiatrique, caractérisée par une mutation somatique du gène WT1. Contrairement à de nombreuses autres lignées cellulaires de tumeurs de Wilms, Wilms3 présente une mutation hétérozygote par déplacement de cadre dans le gène WT1 (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), qui entraîne la production d'une protéine WT1 tronquée. Cette perte partielle de la fonction WT1 est associée au développement de tumeurs présentant un phénotype stromal ou mésenchymateux. Cependant, la mutation WT1 dans Wilms3 n'est pas homozygote, ce qui ajoute de la complexité à son étude, car elle conserve une certaine fonction WT1 qui peut influencer la biologie des tumeurs différemment par rapport aux lignées cellulaires avec une perte complète de WT1.
Wilms3 porte également une mutation dans le gène CTNNB1, affectant spécifiquement la thréonine 41 (p.T41A), qui joue un rôle critique dans la voie de signalisation Wnt. Cette mutation stabilise la β-Caténine, empêchant sa dégradation et conduisant à l'activation constitutive de la voie Wnt. L'activation persistante de la signalisation Wnt entraîne la prolifération cellulaire et contribue à la tumorigenèse dans le Wilms3, ce qui en fait un modèle clé pour l'étude de l'impact des mutations CTNNB1 dans le contexte d'un fond WT1 partiellement fonctionnel.
Sur le plan phénotypique, les cellules Wilms3 présentent une morphologie de type mésenchymateuse, exprimant la vimentine et manquant de cytokératine, ce qui correspond aux caractéristiques stromales observées dans la tumeur d'origine. Ces cellules présentent un potentiel de différenciation limité, avec la capacité de subir une différenciation mésenchymateuse dans des conditions spécifiques. Les analyses protéomiques de Wilms3 ont révélé l'activation de plusieurs récepteurs tyrosine kinases (RTK), dont le PDGFRβ et l'AXL, qui favorisent la survie et la prolifération des cellules. En outre, les voies de signalisation en aval, telles que MAPK et PI3K/AKT, sont activées, ce qui renforce les propriétés malignes des cellules Wilms3.
Un aspect unique de Wilms3 est sa fonctionnalité WT1 partielle, ce qui offre une perspective distincte sur la façon dont les mutations WT1 contribuent à la biologie de la tumeur de Wilms lorsque la mutation n'est pas complète. L'interaction entre WT1 et la signalisation Wnt dans Wilms3 offre une occasion précieuse d'étudier les rôles nuancés que ces voies jouent dans le développement des tumeurs. Dans l'ensemble, Wilms3 constitue un modèle important pour l'étude des mécanismes moléculaires qui sous-tendent la tumeur de Wilms en présence d'une perte partielle de WT1 et d'une activation constitutive de la voie Wnt.

Tissu	Rein
Maladie	Tumeur de Wilms

Applications

Modèle de culture cellulaire in vitro. Études biochimiques

CLASSIFICATION

Organisme	Humain
Sexe	Homme
Propriétés de croissance	Adepte
Niveau de biosécurité	1

CARACTÉRISTIQUES

Morphologie	En forme de fuseau
Type de cellule	Cellules de Wilms

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

IDENTIFIANTS

Référence

Wilms3 (numéro de catalogue Cytion 300414)

Numéro d'identification fiscale NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SF

EXPRESSION ET SENSIBILITÉ

Profil mutationnel

Statut de la mutation WT1 : homozygote c.1293-1294insA, p.V432fsx87, LOH : 11p11-11pter, Statut de la mutation CTNNB1 : type sauvage

MANIPULATION ET CULTURE

Milieu de culture

Kit MSCGM (de Lonza)

Atmosphère d'incubation	37°C, 5%CO2, atmosphère humidifiée.
Réactif de dissociation	Accutase

Repiquage

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.

Décongélation et mise en culture

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

CONTRÔLE QUALITÉ ET CRYOCONSERVATION

Stérilité

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.

Milieu de congélation	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 cryogénisation.

Conditions de stockage

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.

Conditions de livraison

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.

DONATEUR

Âge du donneur	11-12 mois
Origine ethnique	Caucasien

ASPECTS JURIDIQUES ET SÉCURITÉ

Consignes de sécurité

Lorsque l'on envisage de stocker un cryovial dans l'azote liquide en vue d'une décongélation ultérieure, il est obligatoire de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Des gants et des vêtements de protection appropriés sont indispensables, et l'utilisation d'un masque facial ou de lunettes de sécurité est requise pendant le transfert des échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d'azote liquide. Ceci afin de réduire le risque de blessures dues à l'explosion potentielle des cryoviaux lors de leur retrait, qui peut entraîner la projection de fragments tranchants.

Garantie

Chez Cytion, nous nous portons garants de la qualité et de la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant 60 jours après l'expédition de nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le certificat d'analyse et/ou la fiche produit
Pour plus de détails, veuillez consulter notre <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default""> Déclaration de garantie

Un accord de transfert de matériel est requis	Yes