Wilms8

300416

GENERAL INFORMATION

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 PDGFRβ 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.

Tissue	Rein
Disease	Tumeur de Wilms

Applications

Modèle de culture cellulaire in vitro. Études biochimiques

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Male
Growth properties	Adherent
Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	En forme de fuseau
Cell type	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

IDENTIFIERS

Citation

Wilms8 (numéro de catalogue Cytion 300416)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SJ

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Mutational profile

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

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

Trousse MSCGM (de Lonza)

Incubation atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.
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.

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

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.

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.

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.

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.

DONOR

Donor age	8 mois
Ethnicity	caucasien

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Lorsqu’on prévoit entreposer un cryotube dans de l’azote liquide en vue d’une décongélation ultérieure, il est impératif de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Le port de gants et de vêtements de protection appropriés est essentiel, et l’utilisation d’un masque facial ou de lunettes de protection est obligatoire lors du transfert d’échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d’azote liquide. Cette précaution vise à réduire le risque de blessure causé par d’éventuelles explosions de cryotubes lors de leur retrait, pouvant entraîner la projection de fragments coupants.

Warranty

Chez Cytion, nous garantissons la qualité et la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant 60 jours à compter de leur expédition depuis nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le certificat d’analyse et/ou la fiche technique du produit.
Pour plus de détails, veuillez consulter notre déclaration de garantie.

Material Transfer Agreement required	Yes

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