

**Cellules Wilms6 | 300415****Informations générales****Description**

La lignée cellulaire Wilms6 a été établie à partir d'une tumeur de Wilms primaire chez un patient pédiatrique présentant une mutation germinale du gène WT1. Cette lignée cellulaire est définie par une mutation homozygote non-sens dans le gène WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), qui se traduit par une protéine WT1 tronquée et non fonctionnelle. La protéine WT1 est un régulateur essentiel du développement du rein, et sa perte est fortement associée à la tumeur de Wilms, en particulier dans les cas présentant une différenciation mésenchymateuse. La lignée cellulaire Wilms6 est un modèle important pour l'étude des effets tumorigènes de la perte complète de la protéine WT1, en particulier dans le contexte des tumeurs qui présentent à la fois des caractéristiques épithéliales et mésenchymateuses.

Les cellules Wilms6 sont également porteuses d'une mutation du gène CTNNB1, affectant spécifiquement la sérine 45 (p.S45F), un site clé pour la phosphorylation qui régule la dégradation de la  $\beta$ -Caténine. Cette mutation entraîne la stabilisation et l'accumulation nucléaire de la  $\beta$ -Caténine, ce qui provoque l'activation constitutive de la voie de signalisation Wnt. L'activation aberrante de la signalisation Wnt est un moteur connu de la prolifération cellulaire et de la tumorigénèse dans les tumeurs de Wilms, ce qui fait de Wilms6 un outil précieux pour étudier le rôle de la dysrégulation de la voie Wnt dans les tumeurs présentant des mutations WT1.

Sur le plan phénotypique, les cellules Wilms6 présentent une morphologie mésenchymateuse, avec une forte expression de vimentine et l'absence de marqueurs épithéliaux tels que la cytokératine, ce qui reflète la nature stromale de la tumeur d'origine. Il a été démontré que ces cellules possèdent un potentiel de différenciation limité mais notable, y compris la capacité de se différencier en cellules de type musculaire dans des conditions spécifiques, ce qui reflète la différenciation mésenchymateuse observée dans certaines tumeurs de Wilms. Les études protéomiques de Wilms6 ont identifié l'activation de plusieurs récepteurs tyrosine kinases (RTK), dont le PDGFR $\beta$  et l'AXL, qui sont impliqués dans la promotion de la survie, de la prolifération et de la migration des cellules. L'activation en aval de voies de signalisation telles que MAPK et PI3K/AKT souligne encore la nature agressive de cette lignée cellulaire.

Dans l'ensemble, la lignée cellulaire Wilms6 constitue un modèle crucial pour l'exploration des mécanismes moléculaires qui sous-tendent le développement des tumeurs de Wilms, en particulier dans les cas de perte complète de WT1 combinée à l'activation de la signalisation Wnt. Ses caractéristiques génétiques et phénotypiques en font une excellente plateforme pour étudier l'interaction entre la déficience en WT1 et les voies de signalisation aberrantes, ce qui permet de découvrir des cibles thérapeutiques potentielles pour ce type de tumeur agressive.

**Organism** Humain**Tissue** Rein**Disease** Tumeur de Wilms**Applications** Modèle de culture cellulaire in vitro. Études biochimiques**Caractéristiques****Age** 15 mois

**Cellules Wilms6 | 300415****Gender** Homme**Ethnicity** Caucasien**Morphology** En forme de fuseau**Cell type** Cellules de Wilms**Growth properties** Adhérent**Données réglementaires****Citation** Wilms6 (numéro de catalogue Cytion 300415)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SI**Depositor** B. Royer-Pokora**Données biomoléculaires****Mutational profile** Statut de la mutation WT1 : homozygote c.1168C>T, p.R390x, LOH : 11p11-11pter, statut de la mutation CTNNB1 : homozygote del TCT, p.DS45**Manipulation****Culture Medium** Kit MSCGM (de Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase

## Cellules Wilms6 | 300415

### 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.

### 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 continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

## Cellules Wilms6 | 300415

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5%<sub>CO2</sub>, atmosphère humidifiée.

**Flask Coating** Aucun

**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.

## Cellules Wilms6 | 300415

**Profil STR**

**Amelogenin:** x,y  
**CSF1PO:** 11,12  
**D13S317:** 8,11  
**D16S539:** 9,11  
**D5S818:** 8,9  
**D7S820:** 8,11  
**TH01:** 9,9  
**TPOX:** 11,11  
**vWA:** 16,18  
**D3S1358:** 15,16  
**D21S11:** 28,30  
**D18S51:** 12,16  
**Penta E:** 8,13  
**Penta D:** 11,11  
**D8S1179:** 11,13  
**FGA:** 22,23

**Allèles HLA**

**A\*:** '02:05:01, '29:01:01  
**B\*:** '07:05:01, '13:02:01  
**C\*:** '06:02:01, '15:05:02  
**DRB1\*:** '07:01:01, '10:01:01  
**DQA1\*:** '01:05:01, '02:01:01  
**DQB1\*:** '02:02:01, '05:01:01  
**DPB1\*:** '04:02:01, '17:01:01  
**E:** '01:01:01