

## Cellules Wilms8 | 300416

## Informations générales

## 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 est caractérisée par une mutation homozygote non-sens du 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 des reins et son inactivation est une caractéristique commune à certains sous-types agressifs de la tumeur 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 qui se développent avec une composante stromale prononcée.

Outre la mutation du gène WT1, les cellules Wilms8 présentent une mutation du gène CTNNB1 (p.S45A), qui code pour la  $\beta$ -Caténine, un régulateur clé de la voie de signalisation Wnt. La mutation à la sérine 45 perturbe le processus normal de phosphorylation qui conduit à la dégradation de la  $\beta$ -Caténine, provoquant sa stabilisation et son accumulation dans le noyau. Il en résulte une activation constitutive de la signalisation Wnt, qui entraîne la prolifération cellulaire et contribue aux propriétés oncogènes de la lignée cellulaire Wilms8. L'interaction entre la perte de WT1 et la signalisation Wnt aberrante dans la lignée Wilms8 en fait un modèle crucial pour comprendre les mécanismes moléculaires qui sous-tendent ces voies dans la biologie des tumeurs 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 supplémentaire, telle que la formation de cellules musculaires dans des conditions spécifiques. Les analyses protéomiques de Wilms8 ont révélé l'activation de plusieurs récepteurs tyrosine kinases (RTK), dont le PDGFR $\beta$  et l'AXL, qui sont impliqués dans des processus clés tels que la survie, la migration et la prolifération des cellules. L'activation des voies de signalisation en aval, en particulier les voies MAPK et PI3K/AKT, contribue également aux caractéristiques agressives des cellules Wilms8.

Dans l'ensemble, la lignée cellulaire Wilms8 est un outil essentiel pour étudier les bases moléculaires de la tumeur de Wilms due à la perte de WT1 et à une signalisation Wnt aberrante. Ses caractéristiques génétiques et phénotypiques en font une plateforme robuste pour l'étude de l'interaction entre ces voies critiques et pour l'identification de cibles thérapeutiques potentielles dans les tumeurs de Wilms à composante stromale.

**Organism** Humain

**Tissue** Rein

**Disease** Tumeur de Wilms

**Applications** Modèle de culture cellulaire in vitro. Études biochimiques

## Caractéristiques

**Age** 8 mois

**Gender** Homme

**Cellules Wilms8 | 300416****Ethnicity**      Caucasien**Morphology**      En forme de fuseau**Cell type**      Cellules de Wilms**Growth properties**      Adhérent**Données réglementaires****Citation**      Wilms8 (numéro de catalogue Cytion 300416)**Biosafety level**      1**NCBI\_TaxID**      9606**CellosaurusAccession**      CVCL\_A5SJ**Depositor**      B. Royer-Pokora**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**      Kit MSCGM (de Lonza)**Dissociation Reagent**      Accutase**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.

## Cellules Wilms8 | 300416

### 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.

### Incubation Atmosphere

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

### Flask Coating

Aucun

## Cellules Wilms8 | 300416

### 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.

### Profil STR

**Amelogenin:** x,y  
**CSF1PO:** 11,12  
**D13S317:** 8,9  
**D16S539:** 13,13  
**D5S818:** 12,13  
**D7S820:** 8,10  
**TH01:** 8,8  
**TPOX:** 8,9  
**vWA:** 18,18  
**D3S1358:** 16,18  
**D21S11:** 29,33.2  
**D18S51:** 12,12  
**Penta E:** 12,17  
**Penta D:** 10,12  
**D8S1179:** 8,13  
**FGA:** 20,21

**Cellules Wilms8 | 300416**

**Allèles HLA**

**A\***: '02:01:01, '03:01:01

**B\***: '15:01:01, '37:01:01

**C\***: '04:01:01, '06:02:01

**DRB1\***: '08:01:01G, '11:01:01

**DQA1\***: '04:01:01, '05:05:01

**DQB1\***: '03:01:01, '04:02:01

**DPB1\***: '03:01:01, '06:01:01

**E**: '01:03:02