

## Cellules Wilms10M | 300418

## Renseignements généraux

## Description

La lignée cellulaire Wilms10M a été établie à partir d'un nodule pulmonaire métastatique provenant d'un patient atteint d'une tumeur de Wilms (néphroblastome). Tout comme sa contrepartie tumorale primaire, Wilms10T, la lignée cellulaire Wilms10M se caractérise par une délétion homozygote du gène WT1, entraînant l'absence complète de la protéine WT1. Le gène WT1 est essentiel au développement normal du rein, et sa délétion est associée à un comportement tumoral plus agressif, particulièrement dans les cas de métastases. De plus, les cellules Wilms10M présentent une perte d'hétérozygotie (LOH) dans la région chromosomique 11p15, qui comprend le gène IGF2, ce qui contribue davantage aux propriétés malignes de ces cellules.

Les cellules Wilms10M présentent un caryotype stable, sans réarrangements chromosomiques majeurs autres que la délétion spécifique de la région WT1. Cette lignée cellulaire, dérivée d'un tissu métastatique, est particulièrement utile pour l'étude des mécanismes moléculaires à l'origine des métastases dans la tumeur de Wilms. Ces cellules présentent des caractéristiques mésenchymateuses, exprimant des marqueurs tels que la vimentine, tout en étant dépourvues de marqueurs épithéliaux comme la cytokératine, ce qui indique qu'elles proviennent de la composante stromale de la tumeur.

La recherche sur la lignée Wilms10M s'est concentrée sur les voies de signalisation actives dans ces cellules métastatiques. Des analyses protéomiques ont démontré l'activation de plusieurs récepteurs tyrosine-kinases (RTK), notamment l'IGF1R, le PDGFR $\beta$  et l'AXL, qui contribuent à favoriser la survie cellulaire, la prolifération et le potentiel métastatique. Les voies de signalisation en aval MAPK et PI3K/AKT sont également activées et jouent un rôle clé dans le maintien du phénotype invasif et métastatique des cellules Wilms10M. Compte tenu de son origine métastatique, le Wilms10M constitue un modèle essentiel pour comprendre les événements moléculaires sous-jacents aux métastases de la tumeur de Wilms et pour élaborer des stratégies thérapeutiques ciblées contre la maladie métastatique.

**Organism** Humain

**Tissue** Rein

**Disease** Tumeur de Wilms

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

**Synonyms** Wilms10

## Caractéristiques

**Age** 2 ans

**Gender** Femme

**Ethnicity** caucasien

**Cellules Wilms10M | 300418****Morphology** En forme de fuseau**Cell type** cellules de Wilms**Growth properties** Adepté**Données réglementaires****Citation** Wilms10M (numéro de catalogue Cytion 300418)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SL**Données biomoléculaires****Mutational profile** Statut mutationnel du gène WT1 : délétion homozygote du gène WT1 dans la région del11p13. LOH : absent dans la région 11p13, mais UPD dans la région 11p15. Statut mutationnel du gène CTNNB1 : délétion homozygote du gène TCT, p.DS45, UPD 3p**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.**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.

## Cellules Wilms10M | 300418

### 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  $-150\text{ °C}$  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  $37\text{ °C}$  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  $300 \times g$  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

$37\text{ °C}$ , 5 % de  $\text{CO}_2$ , 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  $-78\text{ °C}$  pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

### 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  $-196\text{ °C}$ . L'entreposage à  $-80\text{ °C}$  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.