

Tế bào Wilms1 | 300411

Thông tin chung

Description

Dòng tế bào Wilms1 được phân lập từ mẫu khối u Wilms nguyên phát lấy từ bệnh nhân có khối u thận hai bên kích thước lớn, đặc trưng cho khối u Wilms, một loại u thận bào ở trẻ em. Dòng tế bào này mang đột biến vô nghĩa đồng hợp tử trong gen WT1 (c.149 C>A, p.S50X), dẫn đến protein WT1 bị cắt ngắn và không có chức năng. Gen WT1, có vai trò quan trọng trong sự phát triển và chức năng của thận, thường bị đột biến trong u Wilms, đặc biệt là ở những trường hợp có kiểu hình mô liên kết (stromal) với sự biệt hóa mô liên kết bất thường. Do đó, các tế bào Wilms1 đại diện cho một mô hình in vitro độc đáo để nghiên cứu hậu quả của sự mất chức năng WT1 trong sinh học khối u.

Dòng tế bào Wilms1 duy trì một karyotype ổn định mà không có bất thường nhiễm sắc thể đáng kể, cho phép nuôi cấy lâu dài đáng tin cậy. Các tế bào này thể hiện biểu hiện mesenchymal, đặc trưng bởi sự biểu hiện của vimentin và sự vắng mặt của các dấu hiệu biểu mô như cytokeratin, phù hợp với nguồn gốc mô liên kết của chúng. Ngoài ra, dòng tế bào này thể hiện khả năng biệt hóa trung mô hạn chế nhưng đáng chú ý, bao gồm khả năng biệt hóa thành các tế bào giống cơ dưới điều kiện thích hợp. Điều này khiến Wilms1 trở thành công cụ vô giá để nghiên cứu các cơ chế phân tử của quá trình biệt hóa trung mô và sự rối loạn của nó trong cơ chế bệnh sinh của u Wilms.

Wilms1 cũng đã được sử dụng để nghiên cứu trạng thái hoạt hóa của các con đường tín hiệu chính liên quan đến tiến triển khối u. Phân tích proteomics cho thấy các tế bào Wilms1 có sự phosphoryl hóa và kích hoạt của một số thụ thể tyrosine kinase, bao gồm EGFR và PDGFRB, cũng như các con đường tín hiệu MAPK ở hạ lưu. Những phát hiện này nhấn mạnh tầm quan trọng của dòng tế bào Wilms1 trong việc khám phá các phương pháp điều trị nhằm mục tiêu cho u Wilms bằng cách phân tích vai trò của các con đường này trong sự sống còn, tăng sinh và biệt hóa của tế bào ung thư.

Organism Con người

Tissue Thận

Applications Mô hình nuôi cấy tế bào in vitro. Nghiên cứu sinh hóa

Synonyms Wilms 1-2l

Đặc điểm

Age 2 năm

Gender Nữ

Ethnicity Người da trắng

Morphology Hình dạng trực

Cell type Tế bào Wilms

Tế bào Wilms1 | 300411

Growth properties Người tuân thủ

Dữ liệu quy định

Citation Wilms1 (Số catalog Cytion 300411)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A5SC

Dữ liệu sinh học phân tử

Receptors expressed Receptor tyrosine kinase EGFR, EphA7, PDGFRalpha, FGFR1, PDGFRbeta, AxL

Tumorigenic Đúng, trên chuột nude. Tạo khối u với các tế bào nhỏ tương tự như khối u Wilms (các mô ghép có thể không đại diện hoàn toàn cho khối u Wilms, xem E. Kuncz Stroup 2017)

Viruses HIV-1: âm tính, HBV: âm tính, HCV: âm tính

Mutational profile Tình trạng đột biến WT1: đồng hợp tử c. 149 C>A, p.S50x, mất dị hợp tử (LOH): 11p11-11pter, Tình trạng đột biến CTNNB1: dị hợp tử TCT>TTT, p.S45F

Karyotype 46, bình thường

Xử lý

Culture Medium Bộ kit MSCGM (của Lonza)

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 24 giờ

Tế bào Wilms1 | 300411

Subculturing Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.

Seeding density 1×10^4 tế bào/cm²

Fluid renewal 1 đến 2 lần mỗi tuần

Post-Thaw Recovery Nhanh

Freeze medium Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Tế bào Wilms1 | 300411**Thawing and
Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở $300 \times g$ trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Không có

**Freezing
Procedure**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

**Shipping
Conditions**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào Wilms1 | 300411

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196 °C. Việc bảo quản ở -80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.

Các alen HLA

A*: '03:01:01, '24:02:01
B*: '35:03:01, '38:01:01
C*: 12:03:01
DRB1*: '07:01:01, '14:54:01
DQA1*: '01:04:01, '02:01:01
DQB1*: '02:02:01, '05:03:01
DPB1*: '02:01:02G, '04:02:01G
E: 01:03:01, 01:03:02