

## Tế bào Wilms3 | 300414

## Thông tin chung

## Description

Dòng tế bào Wilms3 được thiết lập từ một khối u Wilms nguyên phát ở một bệnh nhân nhi, có đặc điểm là đột biến somatic WT1. Khác với nhiều dòng tế bào u Wilms khác, Wilms3 mang đột biến khung dịch di hợp tử trong gen WT1 (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), dẫn đến sản xuất protein WT1 bị cắt ngắn. Sự mất chức năng một phần của WT1 này liên quan đến sự phát triển của các khối u có biểu hiện mô liên kết hoặc mô trung mô. Tuy nhiên, đột biến WT1 trong Wilms3 không phải là đồng hợp tử, điều này làm phức tạp việc nghiên cứu, vì nó vẫn giữ lại một phần chức năng WT1 có thể ảnh hưởng đến sinh học khối u theo cách khác so với các dòng tế bào có sự mất hoàn toàn chức năng WT1.

Wilms3 cũng mang đột biến trong gen CTNNB1, cụ thể là ảnh hưởng đến threonine 41 (p.T41A), đóng vai trò quan trọng trong con đường tín hiệu Wnt. Đột biến này ổn định  $\beta$ -Catenin, ngăn chặn sự phân hủy của nó và dẫn đến sự kích hoạt liên tục của con đường Wnt. Sự kích hoạt liên tục của tín hiệu Wnt thúc đẩy sự phân chia tế bào và góp phần vào quá trình hình thành khối u trong Wilms3, khiến nó trở thành mô hình quan trọng để nghiên cứu tác động của đột biến CTNNB1 trong bối cảnh gen WT1 còn hoạt động một phần.

Về mặt hình thái, các tế bào Wilms3 có hình thái tương tự mô liên kết, biểu hiện vimentin và thiếu cytokeratin, phù hợp với các đặc điểm mô liên kết quan sát được trong khối u ban đầu. Các tế bào này có tiềm năng biệt hóa hạn chế, có khả năng biệt hóa một phần thành mô liên kết dưới điều kiện cụ thể. Phân tích proteomics của Wilms3 đã tiết lộ sự hoạt hóa của một số thụ thể tyrosine kinase (RTKs), bao gồm PDGFR $\beta$  và AXL, hỗ trợ sự sống còn và tăng sinh của tế bào. Ngoài ra, các con đường tín hiệu hạ lưu như MAPK và PI3K/AKT cũng được hoạt hóa, củng cố các đặc tính ác tính của tế bào Wilms3.

Một đặc điểm độc đáo của Wilms3 là chức năng WT1 một phần, cung cấp góc nhìn mới về cách các đột biến WT1 góp phần vào sinh học khối u Wilms khi đột biến không hoàn toàn. Sự tương tác giữa WT1 và tín hiệu Wnt trong Wilms3 mang lại cơ hội quý giá để nghiên cứu vai trò phức tạp của các con đường này trong sự phát triển khối u. Tổng thể, Wilms3 đóng vai trò là mô hình quan trọng để nghiên cứu các cơ chế phân tử cơ bản của u Wilms trong điều kiện mất một phần chức năng WT1 và kích hoạt liên tục con đường Wnt.

**Organism** Con người

**Tissue** Thận

**Disease** U bướu Wilms

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

## Đặc điểm

**Age** 11-12 tháng

**Gender** Nam

**Ethnicity** Người da trắng

**Tế bào Wilms3 | 300414****Morphology** Hình dạng trực**Cell type** Tế bào Wilms**Growth properties** Người tuân thủ**Dữ liệu quy định****Citation** Wilms3 (Số catalog Cytion 300414)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_A5SF**Dữ liệu sinh học phân tử****Mutational profile** Tình trạng đột biến WT1: đồng hợp tử c.1293-1294insA, p.V432fsx87, mất đoạn nhiễm sắc thể (LOH): 11p11-11pter, Tình trạng đột biến CTNNB1: kiểu hoang dã**Xử lý****Culture Medium** Bộ kit MSCGM (của Lonza)**Dissociation Reagent** Accutase**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.**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 Wilms3 | 300414****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  $-150^{\circ}\text{C}$  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  $37^{\circ}\text{C}$  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**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78^{\circ}\text{C}$  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  $-78^{\circ}\text{C}$  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 Wilms3 | 300414

### 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  
**B\***: '35:01:01, '35:03:01  
**C\***: 04:01:01  
**DRB1\***: '04:03:01, '11:04:01  
**DQA1\***: '03:01:01, '05:05:01  
**DQB1\***: '03:01:01, '03:02:01  
**DPB1\***: '01:01:01, '04:01:01  
**E**: '01:03:02, '01:06:01