

Tế bào ImWilms10T | 300419

Thông tin chung

Description

Dòng tế bào imWilms10T là một biến thể bất tử hóa của dòng tế bào ung thư nguyên phát Wilms10T, được phân lập từ mẫu ung thư Wilms (nephroblastoma) của một bệnh nhân nhi. Dòng tế bào này được đặc trưng bởi sự mất đoạn đồng hợp tử của gen WT1, dẫn đến sự mất hoàn toàn chức năng của protein WT1. WT1 là gen quan trọng cho sự phát triển của thận, và sự mất đoạn của nó trong imWilms10T phản ánh sự rối loạn di truyền nghiêm trọng liên quan đến cơ chế bệnh sinh của u Wilms. Ngoài sự mất đoạn WT1, các tế bào imWilms10T còn thể hiện sự mất dị hợp tử (LOH) trong vùng nhiễm sắc thể 11p15, bao gồm các gen quan trọng như IGF2, góp phần vào tính chất ác tính của khối u.

Để khắc phục tuổi thọ hạn chế của các tế bào Wilms10T, dòng tế bào imWilms10T được thiết lập bằng cách đưa vào các tế bào ung thư ban đầu một đột biến ba lần của kháng nguyên T lớn SV40 (U19d189-97tsA58). Quá trình bất tử hóa này cho phép các tế bào imWilms10T phát triển vô hạn trong khi duy trì sự ổn định nhiễm sắc thể, từ đó cung cấp một mô hình đáng tin cậy cho các nghiên cứu lâu dài. Các tế bào imWilms10T giữ nguyên các đặc điểm quan trọng của dòng tế bào Wilms10T ban đầu, bao gồm sự mất hoàn toàn gen WT1 và sự hiện diện của LOH tại 11p15, khiến chúng trở thành nguồn tài nguyên vô giá để nghiên cứu các hậu quả phân tử của việc mất gen WT1 và các quá trình gây ung thư liên quan.

Các tế bào imWilms10T đã được nghiên cứu rộng rãi về sự tham gia của chúng vào các con đường tín hiệu chính thúc đẩy sự tiến triển của khối u. Phân tích proteomics đã cho thấy các tế bào này có sự phosphoryl hóa và hoạt hóa của một số thụ thể tyrosine kinase (RTKs), như IGF1R, PDGFR β và AXL. Các thụ thể được kích hoạt này truyền tín hiệu qua các con đường hạ lưu, bao gồm con đường MAPK và PI3K/AKT, vốn là yếu tố quan trọng để duy trì biểu hiện ác tính của tế bào. Dòng tế bào imWilms10T đóng vai trò là công cụ quan trọng để nghiên cứu tác động của việc mất hoàn toàn gen WT1 đối với tín hiệu tế bào, sự phát triển khối u và các mục tiêu điều trị tiềm năng trong u Wilms, đặc biệt là đối với các thể u ác tính hơn.

Organism Con người

Tissue Thận

Disease U Wilms

Synonyms ImWilms10 T, IM-WT-10

Đặc điểm

Age 2 năm

Gender Nữ

Ethnicity Người da trắng

Morphology Hình dạng trực

Tế bào ImWilms10T | 300419**Cell type** Tế bào Wilms**Growth properties** Người tuân thủ**Dữ liệu quy định****Citation** ImWilms10T (Số catalog Cytion 300419)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_DF34**GMO Status** GMO-S1: Dòng tế bào này, là một biến thể của imWilms10T, chứa cùng một kháng nguyên T của SV40 có ba đột biến, cho phép bất tử hóa có điều kiện trong nghiên cứu sinh học khối u thận ở trẻ em. Phân loại này chỉ áp dụng trong phạm vi Đức và có thể khác nhau ở các khu vực khác.**Dữ liệu sinh học phân tử****Mutational profile** Tình trạng đột biến WT1: đột biến đồng hợp tử WT1 trong vùng del11p13, LOH: không có ở 11p13 nhưng có UPD ở 11p15, Tình trạng đột biến CTNNB1: đột biến đồng hợp tử TCT, p.DS45, UPD 3p**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.**Fluid renewal** 1 đến 2 lần mỗi tuần

Tế bào ImWilms10T | 300419**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.

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 x 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.

Tế bào ImWilms10T | 300419**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.

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*: '01:01:01, '11:01:01
B*: 18:01:01, 27:05:02
C*: '01:02:01, '12:03:01
DRB1*: '01:01:01, '11:04:01
DQA1*: '01:01:01, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '05:01:01
DPB1*: '04:01:01G, '04:02:01G
E: 01:01:01