Product sheet

Tế bào Wilms10T | 300417

Thông tin chung

Description	Dòng tế bào Wilms10T được phân lập từ mẫu khối u Wilms nguyên phát lấy từ bệnh nhân mắc khối u Wilms, một loại u thận bào ở trẻ em. Dòng tế bào này có đặc điểm là sự mất đoạn đồng hợp tử của gen WT1, dẫn đến mất hoàn toàn chức năng của gen WT1, một gen quan trọng tham gia vào quá trình phát triển thận và duy trì sự biệt hóa bình thường của thận. Khác với nhiều dòng tế bào u Wilms khác, Wilms10T không có biểu hiện protein WT1, phản ánh những biến đổi di truyền nghiêm trọng có trong loại u này. Ngoài ra, dòng tế bào Wilms10T còn có sự mất dị hợp tử (LOH) ở vùng nhiễm sắc thể 11p15, bao gồm các gen quan trọng như IGF2, góp phần vào tính chất gây u của nó. Tế bào Wilms10T có bộ nhiễm sắc thể bình thường ổn định, không có sự sắp xếp lại nhiễm sắc thể lớn nào ngoài sự mất đoạn cụ thể của vùng WT1. Dòng tế bào này đã được sử dụng rộng rãi để nghiên cứu tác động của việc mất hoàn toàn WT1 đối với sinh học khối u, bao gồm ảnh hưởng của nó đối với sự tăng sinh tế bào, biệt hóa và phản ứng với các con đường tín hiệu khác nhau. Các tế bào này duy trì các đặc điểm trung mô, biểu hiện các dấu hiệu như vimentin, trong khi thiếu các dấu hiệu biểu mô như cytokeratin, cho thấy nguồn gốc trung mô của chúng. Nhiều nghiên cứu đã tập trung vào các con đường tín hiệu hoạt động trong tế bào Wilms10T. Các nghiên cứu proteomics đã chỉ ra rằng các tế bào này có sự hoạt hóa của một số thụ thể tyrosine kinase (RTKs) như IGF1R, PDGFRβ và AXL, được biết là thúc đẩy quá trình ung thư hóa. Ngoài ra, các con đường tín hiệu hạ lưu, bao gồm con đường MAPK và PI3K/AKT, cũng được kích hoạt trong các tế bào Wilms10T, góp phần vào biểu hiện khối u ác tính của chúng. Sự đặc trưng toàn diện của Wilms10T khiến nó trở thành một mô hình quý giá để nghiên cứu các cơ chế phân tử cơ bản của khối u Wilms có sự mất hoàn toàn gen WT1, cũng như để khám phá các mục tiêu điều trị tiềm năng trong loại khối u ác tính này.
Organism	Con người
Tissue	Thận
Disease	U bướu Wilms
Applications	Mô hình nuôi cấy tế bào in vitro và các nghiên cứu sinh hóa
Synonyms	Wilms10

Đặc điểm

Age	2 năm
Gender	Nữ
Ethnicity	Người da trắng
Morphology	Hình dạng trục

Product sheet

Tế bào Wilms10T | 300417

Cell type	Tế bào Wilms
Growth properties	Người tuân thủ

Dữ liệu quy định

Citation	Wilms10T (Số catalog Cytion 300417)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A5SL

Dữ liệu sinh học phân tử

Mutational profile	Tình trạng đột biến WT1: đột biến đồng hợp tử del WT1 trong vùng del11p13. LOH: không có ở 11p13 nhưng có UPD ở 11p15. Tình trạng đột biến CTNNB1: đột biến đồng hợp tử del TCT, p.DS45, UPD 3p

Xử lý

Culture Medium	Bộ kit MSCGM (của Lonza)
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	46 giờ
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	4×10^4 tế bào/cm^2
Fluid renewal	1 đến 2 lần mỗi tuần

Tế bào Wilms10T | 300417

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 Wilms10T | 300417

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