

tế bào imWilms1 | 300412

Thông tin chung

Description

Dòng tế bào Wilms1 ban đầu được phân lập từ một khối u Wilms nguyên phát, lấy từ bệnh nhân được chẩn đoán mắc khối u thận hai bên kích thước lớn, một biểu hiện đặc trưng của u Wilms (nephroblastoma). Dòng tế bào này mang đột biến vô nghĩa đồng hợp tử trong gen WT1 (c.149 C>A, p.S50X), dẫn đến sản xuất protein WT1 bị cắt ngắn và không có chức năng. WT1 là gen quan trọng trong quá trình phát triển thận, và đột biến của nó có liên quan chặt chẽ đến cơ chế bệnh sinh của u Wilms, đặc biệt là trong các khối u có sự biệt hóa mô liên kết. Tế bào Wilms1 có karyotype ổn định mà không có bất thường nhiễm sắc thể đáng kể, và chúng có biểu hiện kiểu hình mô liên kết, biểu hiện vimentin nhưng thiếu các dấu hiệu biểu mô như cytokeratin. Dòng tế bào này có khả năng phân hóa trung mô hạn chế nhưng đáng kể, bao gồm tiềm năng phân hóa thành các tế bào giống cơ dưới điều kiện cụ thể, làm cho nó trở thành mô hình quan trọng để nghiên cứu các hậu quả phân tử của đột biến WT1.

Để khắc phục tuổi thọ hạn chế của các tế bào Wilms1 nguyên phát, dòng tế bào imWilms1 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 (U19dl89-97tsA58), giúp chúng trở nên bất tử. Sự sửa đổi này cho phép các tế bào imWilms1 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 imWilms1 bất tử vẫn duy trì cùng đột biến WT1 và giữ nguyên các đặc điểm trung mô của dòng tế bào Wilms1 ban đầu.

Ngoài các đặc điểm di truyền và hình thái, dòng tế bào imWilms1 đã được phân tích kỹ lưỡng về hoạt động của các con đường tín hiệu. Các nghiên cứu proteomics đã phát hiện sự phosphoryl hóa và kích hoạt của một số thụ thể tyrosine kinase (RTKs), bao gồm EGFR, PDGFR β và AXL, với sự kích hoạt tiếp theo của các con đường tín hiệu MAPK. Sự kích hoạt nhất quán của các con đường này trong các tế bào imWilms1 nhấn mạnh tầm quan trọng của chúng trong việc nghiên cứu các chiến lược điều trị nhằm mục tiêu đối với u Wilms. Nhìn chung, imWilms1 là một mô hình mạnh mẽ và lâu dài để nghiên cứu các cơ chế phân tử cơ bản của sự phát triển và tiến triển của u Wilms, đặc biệt là những cơ chế được thúc đẩy bởi đột biến WT1 và các con đường tín hiệu bất thường.

Organism Con người

Tissue Thận

Disease U Wilms

Synonyms IM-WT-1

Đặc điểm

Age 10 tháng

Gender Nữ

Ethnicity Người da trắng

Morphology Hình dạng trực

tế bào imWilms1 | 300412**Cell type** Tế bào Wilms**Growth properties** Người tuân thủ**Dữ liệu quy định****Citation** imWilms1 (Số catalog Cytion 300412)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SN**GMO Status** GMO-S1: Dòng tế bào u Wilms người imWilms1 này chứa một cassette kháng nguyên T của SV40 có ba đột biến, cho phép bất tử hóa có điều kiện cho nghiên cứu về u thận. 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: 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**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 imWilms1 | 300412

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

Để đạt được độ bám dính và khả năng sống sót tối ưu sau khi rã đông, chúng tôi khuyến nghị sử dụng **các ống nghiệm hoặc đĩa được phủ collagen**.

tế bào imWilms1 | 300412**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.

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