

Tế bào Wilms6 | 300415

Thông tin chung

Description

Dòng tế bào Wilms6 được thiết lập từ một khối u Wilms nguyên phát ở một bệnh nhân nhi có đột biến WT1 dòng mầm. Dòng tế bào này được đặc trưng bởi một đột biến vô nghĩa đồng hợp tử trong gen WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), dẫn đến protein WT1 bị cắt ngắn và không có chức năng. WT1 là một yếu tố điều hòa quan trọng trong sự phát triển của thận, và sự mất mát của nó có liên quan chặt chẽ với u Wilms, đặc biệt là trong các trường hợp có sự biệt hóa trung mô. Dòng tế bào Wilms6 là một mô hình quan trọng để nghiên cứu các tác động gây ung thư của sự mất mát hoàn toàn gen WT1, đặc biệt trong bối cảnh các khối u có cả đặc điểm biểu mô và trung mô.

Tế bào Wilms6 cũng mang đột biến trong gen CTNNB1, cụ thể ảnh hưởng đến serine 45 (p.S45F), một vị trí quan trọng cho quá trình phosphoryl hóa điều chỉnh sự phân hủy của β -Catenin. Đột biến này dẫn đến sự ổn định và tích tụ trong nhân của β -Catenin, gây ra sự kích hoạt liên tục của con đường tín hiệu Wnt. Sự kích hoạt bất thường của con đường tín hiệu Wnt là một yếu tố thúc đẩy sự tăng sinh tế bào và ung thư hóa trong các khối u Wilms, khiến Wilms6 trở thành công cụ quý giá để nghiên cứu vai trò của sự rối loạn con đường Wnt trong các khối u có đột biến WT1.

Về mặt hình thái, các tế bào Wilms6 có hình thái trung mô, với biểu hiện mạnh của vimentin và thiếu các dấu hiệu biểu mô như cytokeratin, phản ánh bản chất mô liên kết của khối u ban đầu. Các tế bào này đã được chứng minh là có tiềm năng biệt hóa hạn chế nhưng đáng kể, bao gồm khả năng biệt hóa thành các tế bào giống cơ dưới điều kiện cụ thể, tương tự như quá trình biệt hóa trung mô được quan sát trong một số khối u Wilms. Các nghiên cứu proteomics trên Wilms6 đã xác định sự hoạt hóa của nhiều thụ thể tyrosine kinase (RTKs), bao gồm PDGFR β và AXL, tham gia vào việc thúc đẩy sự sống còn, tăng sinh và di chuyển của tế bào. Sự hoạt hóa tiếp theo của các con đường tín hiệu như MAPK và PI3K/AKT càng nhấn mạnh bản chất ác tính của dòng tế bào này.

Tổng thể, dòng tế bào Wilms6 đóng vai trò quan trọng như một mô hình để nghiên cứu các cơ chế phân tử cơ bản của sự phát triển u Wilms, đặc biệt trong các trường hợp mất hoàn toàn WT1 kết hợp với kích hoạt tín hiệu Wnt. Các đặc điểm di truyền và biểu hiện của nó tạo nên một nền tảng lý tưởng để nghiên cứu sự tương tác giữa thiếu hụt WT1 và các con đường tín hiệu bất thường, cung cấp những hiểu biết về các mục tiêu điều trị tiềm năng cho loại u ác tính này.

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 15 tháng

Gender Nam

Ethnicity Người da trắng

Tế bào Wilms6 | 300415**Morphology** Hình dạng trực**Cell type** Tế bào Wilms**Growth properties** Người tuân thủ**Dữ liệu quy định****Citation** Wilms6 (Số catalog Cytion 300415)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SI**Dữ liệu sinh học phân tử****Mutational profile** Tình trạng đột biến WT1: đồng hợp tử c.1168C>T, p.R390x, mất dị hợp tử (LOH): 11p11-11pter, Tình trạng đột biến CTNNB1: đồng hợp tử del TCT, p.DS45**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 Wilms6 | 300415**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 Wilms6 | 300415

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*: '02:05:01, '29:01:01

B*: '07:05:01, '13:02:01

C*: '06:02:01, '15:05:02

DRB1*: '07:01:01, '10:01:01

DQA1*: '01:05:01, '02:01:01

DQB1*: '02:02:01, '05:01:01

DPB1*: '04:02:01, '17:01:01

E: 01:01:01