

Tế bào Wilms11 | 300420

Thông tin chung

Description

Dòng tế bào Wilms11 được phân lập từ một khối u Wilms nguyên phát (nephroblastoma) ở một bệnh nhân nhi. Khác với nhiều dòng tế bào u Wilms khác, Wilms11 có đặc điểm là chứa gen WT1 dạng hoang dã (wild-type), tức là không mang đột biến trong gen WT1, vốn thường liên quan đến các khối u Wilms có biểu hiện ác tính hơn hoặc có đặc điểm mô liên kết. Tuy nhiên, khối u Wilms11 cho thấy sự biệt hóa mô liên kết đáng kể, với các vùng lớn biệt hóa rhabdomyomatous, cho thấy sự hiện diện của các yếu tố mô liên kết trong khối u. Sự hiện diện của gen WT1 kiểu hoang dã, kết hợp với sự biệt hóa mô liên kết của khối u, cung cấp một mô hình độc đáo để hiểu về sinh học của khối u Wilms trong các trường hợp không có đột biến WT1.

Các nghiên cứu di truyền về Wilms11 cho thấy dòng tế bào này mang đột biến đặc hiệu khối u trong gen CTNNB1, gen mã hóa β -Catenin, có vai trò quan trọng trong con đường tín hiệu Wnt. Trong Wilms11, đột biến này ảnh hưởng đến serine 45, một vị trí phosphoryl hóa quan trọng liên quan đến quá trình phân hủy β -Catenin. Đột biến CTNNB1 dẫn đến sự ổn định của β -Catenin, gây tích tụ và kích hoạt liên tục con đường tín hiệu Wnt, một yếu tố thúc đẩy sự tăng sinh tế bào và quá trình hình thành khối u. Điều này khiến Wilms11 trở thành mô hình quan trọng để nghiên cứu tương tác giữa con đường tín hiệu Wnt và sự phát triển của khối u Wilms, đặc biệt trong các trường hợp gen WT1 vẫn còn nguyên vẹn.

Phân tích proteomics của Wilms11 đã tiết lộ sự kích hoạt của một số thụ thể tyrosine kinase (RTKs), bao gồm PDGFR β và AXL, tham gia vào việc thúc đẩy sự phát triển và sự sống còn của tế bào ung thư. Các con đường tín hiệu hạ lưu, như con đường MAPK và PI3K/AKT, cũng được kích hoạt trong tế bào Wilms11, góp phần vào hành vi ung thư của chúng. Khả năng của tế bào Wilms11 trong việc phân hóa mesenchymal, đặc biệt là phân hóa rhabdomyomatous, nhấn mạnh tiềm năng của chúng như một mô hình để nghiên cứu các thành phần mesenchymal của u Wilms. Tổng thể, Wilms11 là một công cụ quý giá để nghiên cứu các cơ chế phân tử thúc đẩy quá trình hình thành u Wilms trong trường hợp không có đột biến WT1 nhưng trong bối cảnh kích hoạt 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 22 tháng

Gender Nam

Ethnicity Người da trắng

Morphology Hình dạng trực

Tế bào Wilms11 | 300420**Cell type** Tế bào Wilms**Growth properties** Người tuân thủ**Dữ liệu quy định****Citation** Wilms11 (Số catalog Cytion 300420)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SM**Dữ liệu sinh học phân tử****Mutational profile** Tình trạng đột biến WT1: đột biến đồng hợp tử WT1 c.901c>T, p.R301x. LOH: . Tình trạng đột biến CTNNB1: kiểu gen 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 Wilms11 | 300420**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 Wilms11 | 300420

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.