

Tế bào Wilms8 | 300416

Thông tin chung

Description

Dòng tế bào Wilms8 được phân lập từ một khối u Wilms nguyên phát ở một bệnh nhân nhi có đột biến WT1 dòng mầm. Dòng tế bào này có đặc điểm là đột biến vô nghĩa đồng hợp tử trong gen WT1 (c.1168 C>T, p.R390X), dẫn đến mất hoàn toàn chức năng của WT1. WT1 đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển bình thường của thận, và sự bất hoạt của nó là một đặc điểm phổ biến trong một số thể ác tính của u Wilms, đặc biệt là những thể có sự biệt hóa mô liên kết. Do đó, Wilms8 cung cấp một mô hình quý giá để nghiên cứu tác động của sự mất chức năng WT1 đối với quá trình hình thành u, đặc biệt trong bối cảnh u Wilms có thành phần mô liên kết rõ rệt.

Ngoài đột biến WT1, tế bào Wilms8 còn mang đột biến trong gen CTNNB1 (p.S45A), mã hóa β -Catenin, một điều hòa chính của con đường tín hiệu Wnt. Đột biến tại serine 45 làm gián đoạn quá trình phosphoryl hóa bình thường dẫn đến phân hủy β -Catenin, gây ra sự ổn định và tích tụ của nó trong nhân. Điều này dẫn đến sự kích hoạt liên tục của tín hiệu Wnt, thúc đẩy sự phân chia tế bào và góp phần vào các đặc tính ung thư của dòng tế bào Wilms8. Sự tương tác giữa sự mất WT1 và tín hiệu Wnt bất thường trong Wilms8 làm cho nó trở thành một mô hình quan trọng để hiểu các cơ chế phân tử cơ bản của các con đường này trong sinh học u Wilms.

Tế bào Wilms8 thể hiện biểu hiện kiểu hình trung mô, đặc trưng bởi sự biểu hiện của vimentin và sự vắng mặt của các dấu hiệu biểu mô như cytokeratin. Điều này phù hợp với sự biệt hóa mô liên kết được quan sát trong khối u ban đầu. Các tế bào này có khả năng hạn chế trong việc tiếp tục biệt hóa trung mô, chẳng hạn như hình thành các tế bào giống cơ dưới điều kiện cụ thể. Phân tích proteomics của Wilms8 đã tiết lộ sự hoạt hóa của nhiều thụ thể tyrosine kinase (RTKs), bao gồm PDGFR β và AXL, tham gia vào các quá trình quan trọng như sự sống còn, di chuyển và tăng sinh của tế bào. Sự hoạt hóa của các con đường tín hiệu hạ lưu, đặc biệt là con đường MAPK và PI3K/AKT, góp phần vào các đặc tính hung hãn của tế bào Wilms8.

Tổng thể, dòng tế bào Wilms8 là công cụ thiết yếu để nghiên cứu cơ sở phân tử của u Wilms do mất WT1 và tín hiệu Wnt bất thường gây ra. Các đặc điểm di truyền và biểu hiện của nó tạo nên nền tảng vững chắc để nghiên cứu tương tác giữa các con đường tín hiệu quan trọng này và xác định các mục tiêu điều trị tiềm năng trong u Wilms có thành phần mô liên kết.

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 8 tháng

Gender Nam

Ethnicity Người da trắng

Tế bào Wilms8 | 300416**Morphology** Hình dạng trực**Cell type** Tế bào Wilms**Growth properties** Người tuân thủ**Dữ liệu quy định****Citation** Wilms8 (Số catalog Cytion 300416)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A5SJ**Dữ liệu sinh học phân tử****Mutational profile** Tình trạng đột biến WT1: đồng hợp tử c.1168C>T, p.390x, LOH: , Tình trạng đột biến CTNNB1: dị hợp tử TCT>GCT, p.S45A**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 Wilms8 | 300416**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 Wilms8 | 300416

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*: '02:01:01, '03:01:01

B*: 15:01:01, 37:01:01

C*: '04:01:01, '06:02:01

DRB1*: '08:01:01G, '11:01:01

DQA1*: '04:01:01, '05:05:01

DQB1*: '03:01:01, '04:02:01

DPB1*: '03:01:01, '06:01:01

E: 01:03:02