Wilms3

300414

GENERAL INFORMATION

Description

Dòng tế bào Wilms3 được thiết lập từ một khối u Wilms nguyên phát ở một bệnh nhân nhi, có đặc điểm là đột biến somatic WT1. Khác với nhiều dòng tế bào u Wilms khác, Wilms3 mang đột biến khung dịch dị hợp tử trong gen WT1 (c.1293-1294insA, p.V432SfsX87), dẫn đến sản xuất protein WT1 bị cắt ngắn. Sự mất chức năng một phần của WT1 này liên quan đến sự phát triển của các khối u có biểu hiện mô liên kết hoặc mô trung mô. Tuy nhiên, đột biến WT1 trong Wilms3 không phải là đồng hợp tử, điều này làm phức tạp việc nghiên cứu, vì nó vẫn giữ lại một phần chức năng WT1 có thể ảnh hưởng đến sinh học khối u theo cách khác so với các dòng tế bào có sự mất hoàn toàn chức năng WT1.
Wilms3 cũng mang đột biến trong gen CTNNB1, cụ thể là ảnh hưởng đến threonine 41 (p.T41A), đóng vai trò quan trọng trong con đường tín hiệu Wnt. Đột biến này ổn định β-Catenin, ngăn chặn sự phân hủy của nó và dẫn đến sự kích hoạt liên tục của con đường Wnt. Sự kích hoạt liên tục của tín hiệu Wnt thúc đẩy sự phân chia tế bào và góp phần vào quá trình hình thành khối u trong Wilms3, khiến nó trở thành mô hình quan trọng để nghiên cứu tác động của đột biến CTNNB1 trong bối cảnh gen WT1 còn hoạt động một phần.
Về mặt hình thái, các tế bào Wilms3 có hình thái tương tự mô liên kết, biểu hiện vimentin và thiếu cytokeratin, phù hợp với các đặc điểm mô liên kết quan sát được trong khối u ban đầu. Các tế bào này có tiềm năng biệt hóa hạn chế, có khả năng biệt hóa một phần thành mô liên kết dưới điều kiện cụ thể. Phân tích proteomics của Wilms3 đã tiết lộ sự hoạt hóa của một số thụ thể tyrosine kinase (RTKs), bao gồm PDGFRβ và AXL, hỗ trợ sự sống còn và tăng sinh của tế bào. Ngoài ra, các con đường tín hiệu hạ lưu như MAPK và PI3K/AKT cũng được hoạt hóa, củng cố các đặc tính ác tính của tế bào Wilms3.
Một đặc điểm độc đáo của Wilms3 là chức năng WT1 một phần, cung cấp góc nhìn mới về cách các đột biến WT1 góp phần vào sinh học khối u Wilms khi đột biến không hoàn toàn. Sự tương tác giữa WT1 và tín hiệu Wnt trong Wilms3 mang lại cơ hội quý giá để nghiên cứu vai trò phức tạp của các con đường này trong sự phát triển khối u. Tổng thể, Wilms3 đóng vai trò là mô hình quan trọng để nghiên cứu các cơ chế phân tử cơ bản của u Wilms trong điều kiện mất một phần chức năng WT1 và kích hoạt liên tục con đường Wnt.

Tissue	Thận
Disease	U bướu Wilms

Applications

Mô hình nuôi cấy tế bào in vitro. Nghiên cứu sinh hóa

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Male
Growth properties	Adherent
Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Morphology	Hình dạng trục
Cell type	Tế bào Wilms

IDENTIFIERS

Citation

Wilms3 (Số catalog Cytion 300414)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SF

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Mutational profile

Tình trạng đột biến WT1: đồng hợp tử c.1293-1294insA, p.V432fsx87, mất đoạn nhiễm sắc thể (LOH): 11p11-11pter, Tình trạng đột biến CTNNB1: kiểu hoang dã

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

Bộ kit MSCGM (của Lonza)

Incubation atmosphere	37°C, 5%CO_2, môi trường ẩm.
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.

Thawing and culturing

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

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.

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 cải thiện quá trình phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

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.

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.

DONOR

Donor age	11-12 tháng
Ethnicity	Người da trắng

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Khi lập kế hoạch lưu trữ ống cryovial trong nitơ lỏng để rã đông sau này, việc tuân thủ các biện pháp an toàn nghiêm ngặt là bắt buộc. Găng tay và quần áo bảo hộ phù hợp là điều cần thiết, và việc sử dụng khẩu trang hoặc kính bảo hộ là bắt buộc trong quá trình chuyển mẫu đông lạnh vào hoặc ra khỏi bể nitơ lỏng. Điều này nhằm giảm thiểu nguy cơ chấn thương do nổ ống cryovial khi lấy ra, có thể dẫn đến việc văng ra các mảnh vỡ sắc nhọn.

Warranty

Tại Cytion, chúng tôi cam kết về chất lượng và khả năng sống của các sản phẩm của mình.
Chúng tôi đảm bảo rằng các tế bào của chúng tôi sẽ có khả năng sống tại thời điểm bắt đầu nuôi cấy trong
60 ngày kể từ khi vận chuyển từ cơ sở của chúng tôi.
Chúng tôi cam kết rằng tất cả các vật liệu tuân thủ các thông số kỹ thuật được mô tả trong
Giấy chứng nhận phân tích và/hoặc Tài liệu sản phẩm.
Để biết chi tiết đầy đủ, vui lòng tham khảo
<a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Tuyên bố Bảo hành.

Material Transfer Agreement required	Yes