Wilms8

300416

GENERAL INFORMATION

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 PDGFRβ 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.

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

Wilms8 (Số catalog Cytion 300416)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_A5SJ

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

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

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	8 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