

WT-CLS1-celler | 300379

Generel information

Description WT-CLS1-cellelinjen blev etableret fra en primær Wilms' tumor af CLS i 1998. Cellerne har dog rhabdoide egenskaber, som påvist af E. Kunc Stroup et al. i 2017. WT-CLS1-celler er følsomme over for miR-16, hvilket resulterer i, at udtrykket af cyclin D-gener falder. Derudover viste cellerne en unik resistens over for IGF1R-hæmning i modsætning til ægte Wilms tumorceller.

Organism Menneske

Tissue Nyre

Disease Rhabdoid tumor

Synonyms CLS1

Karakteristika

Age 5 år

Gender Kvinde

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Epitel-lignende

Cell type B-lymfoblast

Growth properties Monolag, klæbende

Regulatoriske data

Citation WT-CLS1 (Cytion katalognummer 300379)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_5904

Biomolekylære data

WT-CLS1-celler | 300379

Tumorigenic Yees, i nøgne mus. Danner tumor med små celler i overensstemmelse med Wilms' tumor (xenotransplantater repræsenterer muligvis ikke Wilms' tumorer fuldstændigt, se E. Kunc Stroup 2017)

Viruses HIV-1: negativ, HBV: negativ, HCV: negativ

Mutational profile WT1-mutationsstatus: vildtype, CTNNB1-mutationsstatus: vildtype, ingen LOH.

Håndtering

Culture Medium IMDM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 25 mM HEPES, w: 1,0 mM natriumpyruvat, w: 3,024 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820800a)

Supplements Suppler mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Seeding density 1 til 3×10^5 celler/cm²

Fluid renewal Hver 3. til 4. dag

Freeze medium Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

WT-CLS1-celler | 300379

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

WT-CLS1-celler | 300379

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

HLA-alleler

A*: '02:01:01, '02:17:02

B*: '18:03:01, '51:01:01

C*: '07:01:01, '15:02:01

DRB1*: '11:04:01, '14:54:01

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

DQB1*: '03:01:01, '05:03:01

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

E: '01:01:01, '01:03