

## WT-CLS1 rakud | 300379

## Üldine teave

<b>Description</b>	WT-CLS1 rakuliin loodi 1998. aastal CLS-i abil Wilmsi primaarsest kasvajast. Rakkudel on siiski rabdoilised omadused, nagu näitasid E. Kuncz Stroup jt 2017. aastal. WT-CLS1 rakud on tundlikud miR-16 suhtes, mille tulemusena väheneb tsükliin D geenide ekspressioon. Lisaks näitasid rakud erinevalt tõelistest Wilmsi kasvajarakkudest ainulaadset resistentsust IGF1R-i inhibeerimise suhtes.
<b>Organism</b>	Inimene
<b>Tissue</b>	Neerud
<b>Disease</b>	Rabdoidne kasvaja
<b>Synonyms</b>	CLS1

## Omadused

<b>Age</b>	5 aastat
<b>Gender</b>	Naised
<b>Ethnicity</b>	Kaukaasia
<b>Morphology</b>	Epiteelilaadsed
<b>Cell type</b>	B lümfoblast
<b>Growth properties</b>	Monokihiline, kleepuv

## Regulatiivsed andmed

<b>Citation</b>	WT-CLS1 (Cytioni katalooginumber 300379)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5904

## Biomolekulaarsed andmed

## WT-CLS1 rakud | 300379

**Tumorigenic** Jah, alasti hiirtel. Moodustab Wilmsi kasvajale vastavate väikeste rakkudega kasvaja (ksenotransplantaadid ei pruugi täielikult esindada Wilmsi kasvaja, vt E. Kuncz Stroup 2017)

**Viruses** HIV-1: negatiivne, HBV: negatiivne, HCV: negatiivne

**Mutational profile** WT1 mutatsiooni staatus: metsik tüüp, CTNNB1 mutatsiooni staatus: metsik tüüp, LOH puudub.

## Töötlemine

**Culture Medium** IMDM, w: 4,5 g/L glükoos, w: 4 mM L-glutamiin, w: 25 mM HEPES, w: 1,0 mM naatriumpüruvaat, w: 3,024 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820800a)

**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

**Seeding density** 1 kuni  $3 \times 10^5$  rakku/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** Iga 3 kuni 4 päeva tagant

**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

## WT-CLS1 rakud | 300379

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Freezing  
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping  
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## WT-CLS1 rakud | 300379

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

### HLA alleles

**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