

## WT-CLS1 sejtek | 300379

## Általános információk

<b>Description</b>	A WT-CLS1 sejtvonalat 1998-ban egy primer Wilms-tumorból állították elő CLS segítségével. A sejtek azonban rhabdoid tulajdonságokkal rendelkeznek, amint azt E. Kuncz Stroup és munkatársai 2017-ben kimutatták. A WT-CLS1 sejtek érzékenyek a miR-16-ra, ennek következtében a ciklin D gén expressziója csökken. Emellett a sejtek egyedülálló rezisztenciát mutattak az IGF1R gátlással szemben, ellentétben a valódi Wilm-tumor sejtekkel.
<b>Organism</b>	Emberi
<b>Tissue</b>	Vese
<b>Disease</b>	Rhabdoid tumor
<b>Synonyms</b>	CLS1

## Jellemzők

<b>Age</b>	5 év
<b>Gender</b>	Női
<b>Ethnicity</b>	Kaukázusi
<b>Morphology</b>	Epithelszerű
<b>Cell type</b>	B lymphoblast
<b>Growth properties</b>	Monoréteg, tapadó

## Szabályozási adatok

<b>Citation</b>	WT-CLS1 (Cytion katalógusszám: 300379)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5904

## WT-CLS1 sejtek | 300379

## Biomolekuláris adatok

**Tumorigenic** Igen, meztelen egereken. Wilms-tumornak megfelelő kis sejtekkel rendelkező tumort képez (a xenotranszplantátumok nem biztos, hogy teljesen reprezentálják a Wilms-tumort, lásd E. Kuncz Stroup 2017)

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

**Mutational profile** WT1 mutációs státusz: vad típus, CTNNB1 mutációs státusz: vad típus, nincs LOH.

## A kezelése

**Culture Medium** IMDM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 25 mM HEPES, w: 1,0 mM nátrium-piruvát, w: 3,024 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion cikkszám 820800a)

**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

**Seeding density** 1-3 x 10<sup>5</sup> sejt/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 3-4 naponta

**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

## WT-CLS1 sejtek | 300379

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

**Flask Coating**

Nincs

**Freezing  
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping  
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

## WT-CLS1 sejtek | 300379

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

### HLA allélok

**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