

WT-CLS1-cellen | 300379

Algemene informatie

Description De WT-CLS1-cellijn werd in 1998 door CLS gemaakt van een primaire Wilms' tumor. De cellen hebben echter rhabdoïde kenmerken, zoals aangetoond door E. Kuncz Stroup et al. in 2017. WT-CLS1-cellen zijn gevoelig voor miR-16, waardoor de expressie van cycline D-genen afneemt. Daarnaast vertoonden de cellen een unieke resistentie tegen IGF1R-remming, in tegenstelling tot echte Wilm's tumorcellen.

Organism Mens

Tissue Nieren

Disease Rhabdoïde tumor

Synonyms CLS1

Kenmerken

Age 5 jaar

Gender Vrouw

Ethnicity Kaukasisch

Morphology Epitheelachtig

Cell type B lymfoblast

Growth properties Monolaag, adherent

Regelgevende gegevens

Citation WT-CLS1 (Cytion catalogusnummer 300379)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_5904

Biomoleculaire gegevens

WT-CLS1-cellen | 300379

Tumorigenic Ja, in naakte muizen. Vormt tumor met kleine cellen die overeenkomen met Wilms' tumor (xenograften vertegenwoordigen Wilms tumoren mogelijk niet volledig, zie E. Kuncze Stroup 2017)

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

Mutational profile WT1 mutatiestatus: wild type, CTNNB1 mutatiestatus: wild type, geen LOH.

Omgaan met

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

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio Een verhouding van 1:4 tot 1:8 wordt aanbevolen

Seeding density 1 tot 3×10^5 cellen/cm²

Fluid renewal Elke 3 tot 4 dagen

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

WT-CLS1-cellen | 300379

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

WT-CLS1-cellen | 300379

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11,13
D13S317: 9,11
D16S539: 9,11
D5S818: 11,12
D7S820: 8,10
TH01: 9,9.3
TPOX: 8
vWA: 15,19
D3S1358: 14,19
D21S11: 30,31.2
D18S51: 13,15
Penta E: 9,12
Penta D: 9
D8S1179: 13,14
FGA: 22,25

HLA-allelen

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