

WT-CLS1-celler | 300379

Generell informasjon

Description	WT-CLS1-cellelinjen ble etablert fra en primær Wilms' tumor av CLS i 1998. Cellene har imidlertid rabdoide egenskaper, som påvist av E. Kuncze Stroup et al. i 2017. WT-CLS1-celler er følsomme for miR-16, noe som fører til at uttrykket av syklin D-gener reduseres. I tillegg viste cellene en unik resistens mot IGF1R-inhibering, i motsetning til ekte Wilms tumorceller.
Organism	Menneskelig
Tissue	Nyre
Disease	Rhabdoid tumor
Synonyms	CLS1

Kjennetegn

Age	5 år
Gender	Kvinne
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitel-lignende
Cell type	B-lymfoblast
Growth properties	Monolag, vedheftende

Regulatoriske data

Citation	WT-CLS1 (Cytion-katalognummer 300379)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_5904

Biomolekylære data

WT-CLS1-celler | 300379

Tumorigenic Ja, i nakne mus. Danner svulst med små celler som er forenlig med Wilms' svulst (xenotransplantater representerer kanskje ikke Wilms' svulster fullstendig, se E. Kuncce Stroup 2017)

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

Mutational profile WT1-mutasjonsstatus: villtype, CTNNB1-mutasjonsstatus: villtype, 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 artikkelnummer 820800a)

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Split ratio Et forhold på 1:4 til 1:8 anbefales

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

Fluid renewal Hver 3. til 4. dag

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optiming, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

WT-CLS1-celler | 300379

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

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

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

WT-CLS1-celler | 300379

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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-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