

Komórki WT-CLS1 | 300379

Informacje ogólne

Description	Linia komórkowa WT-CLS1 została utworzona z pierwotnego guza Wilmsa przez CLS w 1998 roku. Komórki te mają jednak cechy rabdoidalne, co wykazali E. Kuncce Stroup i wsp. w 2017 roku. Komórki WT-CLS1 są wrażliwe na miR-16, w wyniku czego ekspresja genów cykliny D spada. Ponadto komórki te wykazały wyjątkową oporność na hamowanie IGF1R, w przeciwieństwie do prawdziwych komórek guza Wilmsa.
Organism	Człowiek
Tissue	Nerka
Disease	Guz rabdoidalny
Synonyms	CLS1

Charakterystyka

Age	5 lat
Gender	Kobieta
Ethnicity	Kaukaski
Morphology	Podobny do nabłonka
Cell type	Limfoblast B
Growth properties	Monowarstwa, przylegająca

Dane regulacyjne

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

Dane biomolekularne

Komórki WT-CLS1 | 300379

Tumorigenic Tak, u nagich myszy. Tworzy guza z małymi komórkami zgodnymi z guzem Wilmsa (ksenografty mogą nie reprezentować całości guzów Wilmsa, patrz E. Kuncze Stroup 2017)

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

Mutational profile Status mutacji WT1: typ dziki, status mutacji CTNNB1: typ dziki, brak LOH.

Obsługa

Culture Medium IMDM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 25 mM HEPES, w: 1,0 mM pirogromianu sodu, w: 3,024 g/l NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820800a)

Supplements Uzupełnić podłoże 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całościowo pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio Zalecane są proporcje od 1:4 do 1:8

Seeding density 1 do 3×10^5 komórek/cm²

Fluid renewal Co 3 do 4 dni

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki WT-CLS1 | 300379**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki WT-CLS1 | 300379**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

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

Allele HLA

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