

Células WT-CLS1 | 300379**Informações gerais**

Description A linha celular WT-CLS1 foi estabelecida a partir de um tumor primário de Wilms por CLS em 1998. No entanto, as células têm características rabdoídes, como demonstrado por E. Kuncz Stroup et al. em 2017. As células WT-CLS1 são sensíveis ao miR-16, como resultado da diminuição da expressão dos genes da ciclina D. Além disso, as células apresentaram uma resistência única à inibição do IGF1R, em contraste com as verdadeiras células tumorais de Wilm.

Organism Humano

Tissue Rim

Disease Tumor rabdoide

Synonyms CLS1

Caraterísticas

Age 5 anos

Gender Feminino

Ethnicity Caucasiano

Morphology De tipo epitelial

Cell type Linfoblasto B

Growth properties Monocamada, aderente

Dados regulamentares

Citation WT-CLS1 (número de catálogo Cytion 300379)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_5904

Células WT-CLS1 | 300379**Dados biomoleculares**

Tumorigenic Sim, em ratinhos nus. Forma um tumor com pequenas células consistente com o tumor de Wilms (os xenoenxertos podem não representar completamente os tumores de Wilm, ver E. Kuncce Stroup 2017)

Viruses VIH-1: negativo, VHB: negativo, VHC: negativo

Mutational profile Estado da mutação WT1: tipo selvagem, estado da mutação CTNNB1: tipo selvagem, sem LOH.

Manuseamento

Culture Medium IMDM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-glutamina, com: 25 mM de HEPES, com: 1,0 mM de piruvato de sódio, com: 3,024 g/L de NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820800a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Seeding density 1 a 3×10^5 células/cm²

Fluid renewal A cada 3 ou 4 dias

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células WT-CLS1 | 300379

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células WT-CLS1 | 300379

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Alelos 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