

**Bunky WT-CLS1 | 300379****Všeobecné informácie**

**Description** Bunková línia WT-CLS1 bola vytvorená z primárneho Wilmsovho nádoru metódou CLS v roku 1998. Bunky však majú rabdoidné vlastnosti, ako preukázali E. Kuncce Stroup a kol. v roku 2017. Bunky WT-CLS1 sú citlivé na miR-16, v dôsledku čoho expresia génov cyklínu D klesá. Okrem toho bunky vykazovali jedinečnú rezistenciu na inhibíciu IGF1R, na rozdiel od pravých Wilmových nádorových buniek.

**Organism** Ľudské

**Tissue** Obličky

**Disease** Rabdoidný nádor

**Synonyms** CLS1

**Charakteristika**

**Age** 5 rokov

**Gender** Ženy

**Ethnicity** Kaukazský

**Morphology** Epitelu podobné

**Cell type** B lymfoblast

**Growth properties** Monovrstva, priliehajúca

**Regulačné údaje**

**Citation** WT-CLS1 (katalógové číslo Cytion 300379)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_5904

**Biomolekulárne údaje**

**Bunky WT-CLS1 | 300379**

**Tumorigenic** Áno, na nahých myšiach. Tvorí nádor s malými bunkami zodpovedajúcimi Wilmsovmu nádoru (xenografty nemusia úplne reprezentovať Wilmove nádory, pozri E. Kuncce Stroup 2017)

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

**Mutational profile** Stav mutácie WT1: divoký typ, stav mutácie CTNNB1: divoký typ, bez LOH.

**Spracovanie**

**Culture Medium** IMDM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 25 mM HEPES, w: 1,0 mM pyruvátu sodného, w: 3,024 g/l NaHCO<sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820800a)

**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

**Seeding density** 1 až 3 x 10<sup>5</sup> buniek/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** Každé 3 až 4 dni

**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

## Bunky WT-CLS1 | 300379

### Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri  $300 \times g$  počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Žiadne

### Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky WT-CLS1 | 300379

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

### Alely 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