

Buňky WiDr | 300377

Obecné informace

Description Podle Chen TR, 1987, je buněčná linie WiDr derivátem buněčné linie HT-29. Buňky jsou negativní na expresi Colon Antigen 3, ale pozitivní na keratin při barvení imunoperoxidázou. Buňky exprimovaly antigen p53 (produkovaný p53 má mutaci G -> A, jejímž výsledkem je Arg -> His na pozici 273). Růst buněk WiDr je inhibován tumor nekrotizujícím faktorem alfa (TNF Inhibitory dihydrofolátreduktázy jsou pro buňky WiDr vysoce cytotoxické).

Organism Člověk

Tissue Střeva

Disease Adenokarcinom

Synonyms WiDR, WIDR, WiDr/S, WiDr-TC, WiDrTC, LED-WiDr, Led-WiDr

Charakteristika

Age 44 let

Gender Ženy

Morphology Epitelu podobné

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

Citation WiDr (katalogové číslo Cytion 300377)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2760

Biomolekulární data

Receptors expressed Epidermální růstový faktor (EGF)

Buňky WiDr | 300377

Protein expression	CEA pozitivní
Antigen expression	HLA A24, A32, B15, B18
Isoenzymes	PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, G6PD, B, ES-D, 1, PEP-D, 1, 6PGD, A
Tumorigenic	Ano, u nahých myší
Products	Karcinoembryonální antigen (CEA) 118 ng/106 buněk/10 dní, specifický antigen tlustého střeva (CSAp), transformující růstový faktor beta, keratin

Zpracování

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)
-----------------------	---

Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
--------------------	--------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
---------------------	--

Split ratio	Doporučuje se poměr 1:10 až 1:20
--------------------	----------------------------------

Seeding density	1 x 10 ⁴ buněk/cm ²
------------------------	---

Fluid renewal	1 až 2krát týdně
----------------------	------------------

Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste buňky v množství 5 x 10 ⁴ buněk/cm ² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.
---------------------------	---

Buňky WiDr | 300377**Freeze medium**

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky WiDr | 300377**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11,12
D13S317: 11
D16S539: 11,12
D5S818: 11,12
D7S820: 10
TH01: 6,9
TPOX: 8,9
vWA: 17,19
D3S1358: 15,17
D21S11: 29,30
D18S51: 13
Penta E: 14,16
Penta D: 11,13
D8S1179: 10
FGA: 20,22

Alely HLA

A*: '01:01:01, '24:03:01
B*: '35:01:01, '44:03:01
C*: '04:01:01
DRB1*: '04:02:01, '07:01:01
DQA1*: '02:01:01, '03:01:01
DQB1*: '02:02:01, '03:02:01
DPB1*: '04:01:01
E: '01:01:01, '01:03:01