

WiDr-Zellen | 300377

Allgemeine Informationen

Description Nach Chen TR, 1987, ist die WiDr-Zelllinie ein Derivat der HT-29-Zelllinie. Die Zellen sind negativ für die Expression von Colon Antigen 3, aber positiv für Keratin durch Immunoperoxidase-Färbung. Die Zellen exprimieren das p53-Antigen (das erzeugte p53 hat eine G -> A-Mutation, die an Position 273 zu Arg -> His führt). Das Wachstum der WiDr-Zellen wird durch den Tumor-Nekrose-Faktor alpha gehemmt (TNF-Inhibitoren der Dihydrofolatreduktase sind für WiDr-Zellen hochgradig zytotoxisch).

Organism Menschen

Tissue Doppelpunkt

Disease Adenokarzinom

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

Merkmale

Age 44 Jahre

Gender Weiblich

Morphology Epithelähnlich

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

Citation WiDr (Cytion Katalognummer 300377)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2760

Biomolekulare Daten

Receptors expressed Epidermaler Wachstumsfaktor (EGF)

WiDr-Zellen | 300377

Protein expression	CEA positiv
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	Ja, in Nacktmäusen
Products	Carcinoembryonales Antigen (CEA) 118 ng/106 Zellen/10 Tage, Kolon-spezifisches Antigen (CSAp), transformierender Wachstumsfaktor beta, Keratin

Handhabung

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion-Artikelnummer 820400a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
Split ratio	Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:10 bis 1:20
Seeding density	1×10^4 Zellen/cm ²
Fluid renewal	1 bis 2 Mal pro Woche
Post-Thaw Recovery	Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5×10^4 Zellen/cm ² ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhären lassen.

WiDr-Zellen | 300377

Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärennten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

WiDr-Zellen | 300377

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

STR-Profil

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

HLA-Allele

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