

WiDr Hücreleri | 300377

Genel bilgi

Description	Chen TR, 1987'ye göre WiDr hücre hattı HT-29 hücre hattının bir türevidir. Hücreler Kolon Antijeni 3 ekspresyonu açısından negatif, ancak immünoperoksidaz boyama ile keratin açısından pozitifdir. Hücreler p53 antijenini ifade etmiştir (üretilen p53, 273. pozisyonda Arg -> His ile sonuçlanan bir G -> A mutasyonuna sahiptir). WiDr hücrelerinin büyümesi tümör nekroz faktörü alfa (TNF Dihidrofolat redüktaz inhibitörleri WiDr hücreleri için oldukça sitotoksiktir) tarafından inhibe edilir.
Organism	İnsan
Tissue	Kolon
Disease	Adenokarsinom
Synonyms	WiDR, WIDR, WiDr/S, WiDr-TC, WiDrTC, LED-WiDr, Led-WiDr

Özellikler

Age	44 yıl
Gender	Kadın
Morphology	Epitel benzeri
Growth properties	Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation	WiDr (Cytion katalog numarası 300377)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2760

Biyomoleküler Veriler

Receptors expressed	Epidermal büyüme faktörü (EGF)
----------------------------	--------------------------------

WiDr Hücreleri | 300377

Protein expression	CEA pozitif
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	Evet, çıplak farelerde
Products	Karsinoembriyonik antijen (CEA) 118 ng/106 hücre/10 gün, Kolon Spesifik Antijen (CSAp), dönüştürücü büyüme faktörü beta, keratin

Elleçleme

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3.1 g/L Glukoz, w: 2.5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0.5 mM Sodyum piruvat, w: 1.2 g/L NaHCO ₃ (Cytion makale numarası 820400a)
Supplements	Ortamı %10 FBS ile takviye edin
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.
Seeding density	1×10^4 hücre/cm ²
Fluid renewal	haftada 1 ila 2 kez
Post-Thaw Recovery	Çözüldükten sonra, hücreleri 5×10^4 hücre/cm ² olarak plakaya yerleştirin ve hücrelerin dondurma işleminden kurtulmasını ve en az 24 saat boyunca yapışmasını bekleyin.
Freeze medium	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

WiDr Hücreleri | 300377

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

WiDr Hücreleri | 300377

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

HLA alelleri

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