

## Клетки WiDr | 300377

## Обща информация

**Description** Според Chen TR, 1987 г., клетъчната линия WiDr е производна на клетъчната линия HT-29. Клетките са отрицателни за експресия на Colon Antigen 3, но положителни за кератин чрез имунопероксидазно оцветяване. Клетките експресират антиген p53 (произведеният p53 има мутация G -> A, която води до Arg -> His на позиция 273). Растежът на WiDr клетките се инхибира от тумор некротизиращ фактор алфа (TNF Инхибиторите на дихидрофолат редуктазата са силно цитотоксични за WiDr клетките).

**Organism** Човек

**Tissue** Дебело черво

**Disease** Аденокарцином

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

## Характеристики

**Age** 44 години

**Gender** Жена

**Morphology** Подобни на епител

**Growth properties** Придържачи се

## Регулаторни данни

**Citation** WiDr (каталожен номер 300377 на Cytion)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_2760

## Биомолекулярни данни

**Receptors expressed** Епидермален растежен фактор (EGF)

## Клетки WiDr | 300377

**Protein expression** Положителен резултат за CEA

**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** Да, при голи мишки

**Products** Карциномембрионален антиген (CEA) 118 ng/106 клетки/10 дни, специфичен антиген на дебелото черво (CSAp), трансформиращ растежен фактор бета, кератин

## Работа с

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (номер на изделието на Cytion 820400a)

**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  клетки/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 1 до 2 пъти седмично

**Post-Thaw Recovery** След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност  $5 \times 10^4$  клетки/cm<sup>2</sup> и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

## Клетки WiDr | 300377

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при  $300\text{ x g}$  в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

**Flask Coating**

Няма

**Freezing  
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

## Клетки WiDr | 300377

### Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

### Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

## Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

### Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

### HLA алели

**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