

**Komórki WiDr | 300377****Informacje ogólne**

**Description** Według Chen TR, 1987, linia komórkowa WiDr jest pochodną linii komórkowej HT-29. Komórki są ujemne pod względem ekspresji antygenu okrężnicy 3, ale dodatnie pod względem keratyny w barwieniu immunoperoksydazą. Komórki wyrażały antygen p53 (wytwarzany p53 ma mutację G -> A skutkującą Arg -> His w pozycji 273). Wzrost komórek WiDr jest hamowany przez czynnik martwicy nowotworów alfa (TNF Inhibitory reduktazy dihydrofolianowej są wysoce cytotoksyczne dla komórek WiDr).

**Organism** Człowiek

**Tissue** Colon

**Disease** Gruczolakorak

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

**Charakterystyka**

**Age** 44 lata

**Gender** Kobieta

**Morphology** Podobny do nabłonka

**Growth properties** Adherent

**Dane regulacyjne**

**Citation** WiDr (numer katalogowy Cytion 300377)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_2760

**Dane biomolekularne**

**Receptors expressed** Naskórkowy czynnik wzrostu (EGF)

**Komórki WiDr | 300377**

|                           |                                                                                                                                                  |
|---------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Protein expression</b> | CEA dodatni                                                                                                                                      |
| <b>Antigen expression</b> | HLA A24, A32, B15, B18                                                                                                                           |
| <b>Isoenzymes</b>         | PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, G6PD, B, ES-D, 1, PEP-D, 1, 6PGD, A                                                                                        |
| <b>Tumorigenic</b>        | Tak, u nagich myszy                                                                                                                              |
| <b>Products</b>           | Antygen rakowo-łtodowy (CEA) 118 ng/106 komórek/10 dni, antygen specyficzny dla okrzężnicy (CSAp), transformujący czynnik wzrostu beta, keratyna |

**Obstuga**

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820400a)

**Supplements** Uzupetnić podtoże 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:10 do 1:20

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

**Fluid renewal** 1 do 2 razy w tygodniu

**Post-Thaw Recovery** Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości  $5 \times 10^4$  komórek/cm<sup>2</sup> i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłgnąć do podtoża.

**Komórki WiDr | 300377****Freeze medium**

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation Atmosphere**

37°C, 5%<sub>CO2</sub>, nawilżona atmosfera.

**Flask Coating**

Brak

## Komórki WiDr | 300377

### Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

### 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

**Komórki WiDr | 300377**

**Allele 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