

## Células WiDr | 300377

## Informações gerais

**Description** De acordo com Chen TR, 1987, a linha celular WiDr é um derivado da linha celular HT-29. As células são negativas para a expressão do antígeno 3 do cólon, mas positivas para a queratina por coloração com imunoperoxidase. As células expressam o antígeno p53 (o p53 produzido tem uma mutação G -> A que resulta em Arg -> His na posição 273). O crescimento das células WiDr é inibido pelo fator de necrose tumoral alfa (TNF Os inibidores da dihidrofolato redutase são altamente citotóxicos para as células WiDr).

**Organism** Humano

**Tissue** Cólon

**Disease** Adenocarcinoma

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

## Caraterísticas

**Age** 44 anos

**Gender** Feminino

**Morphology** De tipo epitelial

**Growth properties** Aderente

## Dados regulamentares

**Citation** WiDr (número de catálogo Cytion 300377)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_2760

## Dados biomoleculares

**Receptors expressed** Fator de crescimento epidérmico (EGF)

## Células WiDr | 300377

<b>Protein expression</b>	CEA positivo
<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>	Sim, em ratinhos nus
<b>Products</b>	Antigénio carcinoembrionário (CEA) 118 ng/106 células/10 dias, antigénio específico do cólon (CSAp), fator de crescimento transformador beta, queratina

## Manuseamento

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO <sub>3</sub> (número de artigo Cytion 820400a)
<b>Supplements</b>	Completar o meio com 10% de FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ células/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	1 a 2 vezes por semana
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de $5 \times 10^4$ células/cm <sup>2</sup> e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.
<b>Freeze medium</b>	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## Células WiDr | 300377

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células WiDr | 300377

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

### Alelos 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