

Células WiDr | 300377

Informações gerais

Description De acordo com Chen TR, 1987, a linhagem celular WiDr é um derivado da linhagem celular HT-29. As células apresentam resultado negativo para a expressão do Antígeno 3 do cólon, mas positivo para queratina na coloração por imunoperoxidase. As células expressam o antígeno p53 (o p53 produzido apresenta uma mutação G -> A, resultando em Arg -> His na posição 273). O crescimento das células WiDr é inibido pelo fator de necrose tumoral alfa (TNF; os inibidores da diidrofolato redutase são altamente citotóxicos para as células WiDr).

Organism Humano

Tissue Dois pontos

Disease Adenocarcinoma

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

Características

Age 44 anos

Gender Mulher

Morphology De tipo epitelial

Growth properties Aderente

Dados regulatórios

Citation WiDr (número de catálogo da Cytion 300377)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2760

Dados biomoleculares

Receptors expressed Fator de crescimento epidérmico (EGF)

Células WiDr | 300377**Protein expression** CEA positivo**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** Sim, em camundongos nude**Products** Antígeno carcinoembrionário (CEA) 118 ng/10⁶ células/10 dias, antígeno específico do cólon (CSAp), fator de crescimento transformador beta, queratina**Manuseio****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), p/v: 3,1 g/L de glicose, p/v: 2,5 mM de L-glutamina, p/v: 15 mM de HEPES, peso: 0,5 mM de piruvato de sódio, peso: 1,2 g/L de NaHCO₃ (número de artigo da Cytion 820400a)**Supplements** Adicione 10% de FBS ao meio**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density** 1 x 10⁴ células/cm²**Fluid renewal** 1 a 2 vezes por semana**Post-Thaw Recovery** Após o descongelamento, semeie as células a uma densidade de 5 x 10⁴ células/cm² e deixe que elas se recuperem do processo de congelamento e se adiram por pelo menos 24 horas.**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células WiDr | 300377

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células WiDr | 300377

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.