Product sheet

WI 38 VA13 subline 2RA Cells | 300421

Obecné informace

Description	Podlinie WI-38 VA13 2RA, odvozená z historické buněčné linie WI-38, která původně pocházela z plicní tkáně tříměsíčního plodu, představuje klíčový pokrok v technologii buněčných kultur. Původní buněčná linie WI-38 měla zásadní význam pro vývoj vakcín proti mnoha virovým onemocněním, jako jsou spalničky, příušnice, zarděnky a hepatitida A. Sublinie VA13 2RA je imortalizovanou variantou této buněčné linie, které bylo dosaženo transformací pomocí viru Simian Virus 40 (SV40), což je postup běžný při vývoji nesmrtelných buněčných linií, který umožňuje neomezenou buněčnou replikaci přesahující standardní bod senescence přibližně 50 zdvojení populace. Inkorporace SV40 do buněk WI-38 za účelem vytvoření sublinie VA13 2RA prodlužuje životnost buněk a poskytuje odolnější model pro dlouhodobé experimenty. Tato transformace zachovává základní vlastnosti původních diploidních buněk, ale mění jejich životní cyklus a růstové vzorce, což umožňuje trvalý růst a usnadňuje rozsáhlé studie, které nebyly možné s omezenou životností mateřské buněčné linie. Díky tomu je sublinie VA13 obzvláště užitečná v probíhajících a rozsáhlých oblastech výzkumu, včetně virologie, farmakologie a genetického výzkumu, kde je nutné prodloužit dobu pozorování.
Organism	Člověk
Tissue	Plíce
Synonyms	WI 38 VA-13 subline 2RA, WI 38VA13 subline 2RA, WI-38 VA13 sub 2 RA, WI38-VA13 subline 2RA, WI38 VA13/2RA, WI38VA13/2RA, VA13 2RA, WI-38 VA13, WI 38 VA 13, WI38-VA13, WI38/VA13, WI38VA13, VA-13, VA13, AG07217, AG7217

Charakteristika

Age	3 měsíce těhotenství
Gender	Ženy
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Epitelu podobné
Cell type	Fibroblasty
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

WI 38 VA13 subline 2RA Cells | 300421

Citation	WI 38 VA13 subline 2RA (katalogové číslo Cytion 300421)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2759

Biomolekulární data

Isoenzymes	G6PD, B
Viruses	Obsahuje papovavirus
Virus susceptibility	Herpes simplex, vezikulární stomatitida (Indiana), poliovirus 2
Reverse transcriptase	Negativní
Karyotype	Hyperdiploidní, modální číslo: 73-78

Zpracování

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO3, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:2 až 1:10

WI 38 VA13 subline 2RA Cells | 300421

Seeding density	1 x 10^4 buněk/cm^2
Fluid renewal	1 až 2krát týdně
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste buňky v množství 5 x 10^4 buněk/cm^2 a nechte je alespoň 48 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.

WI 38 VA13 subline 2RA Cells | 300421

Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.
Profil STR	**Amelogenin**: x,y **CSF1PO**: 10,12 **D13S317**: 11 **D16S539**: 11,12 **D5S818**: 10 **D7S820**: 9,11 **TH01**: 9.3 **TPOX**: 8 **vWA**: 19,20 **D3S1358**: 16,17 **D21S11**: 30,30.2 **D18S51**: 16,18 **Penta E**: 13,14 **Penta D**: 13 **D8S1179**: 14 **FGA**: 22,24