

WI 38 VA13 sublinje 2RA-celler | 300421**Generel information****Description**

WI-38 VA13 subline 2RA, der stammer fra den historiske WI-38-cellelinje, som oprindeligt kom fra lungevæv fra et 3 måneder gammelt foster, repræsenterer et vigtigt fremskridt inden for cellekulturteknologi. Den oprindelige WI-38-cellelinje var afgørende for udviklingen af vacciner mod adskillige virussygdomme, såsom mæslinger, fåresyge, røde hunde og hepatitis A. VA13-sublinjen 2RA er en udødeliggjort variant af denne cellelinje, opnået gennem transformation med Simian Virus 40 (SV40), en praksis, der er almindelig i udviklingen af udødelige cellelinjer, som giver mulighed for ubegrænset cellereplikation ud over standardsenesescenspunktet på ca. 50 populationsfordoblinger.

Inkorporeringen af SV40 i WI-38-cellerne for at skabe VA13-underlinjen 2RA forlænger cellernes levetid og giver en mere holdbar model til langtidseksperimenter. Denne transformation bevarer de oprindelige diploide cellers grundlæggende egenskaber, men ændrer deres livscyklus og vækstmønstre, hvilket muliggør vedvarende vækst og omfattende undersøgelser, som ikke var mulige med modercellelinjens begrænsede levetid. Det gør VA13-underlinjen særligt nyttig i igangværende og omfattende forskningsområder, herunder virologi, farmakologi og genetisk forskning, hvor det er nødvendigt med længerevarende observationsperioder.

Organism Menneske**Tissue** Lunge**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**Karakteristika****Age** 3 måneders drægtighed**Gender** Kvinde**Ethnicity** Kaukasisk**Morphology** Epitel-lignende**Cell type** Fibroblast**Growth properties** Vedhæftende**Regulatoriske data**

WI 38 VA13 sublinje 2RA-celler | 300421**Citation** WI 38 VA13 subline 2RA (Cytion katalognummer 300421)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2759**Biomolekylære data****Isoenzymes** G6PD, B**Viruses** Indeholder papovavirus**Virus susceptibility** Herpes simplex, vesikulær stomatitis (Indiana), poliovirus 2**Reverse transcriptase** Negativ**Karyotype** Hyperdiploid, modal: 73-78**Håndtering****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Seeding density** 1×10^4 celler/cm²

WI 38 VA13 sublinje 2RA-celler | 300421**Fluid renewal** 1 til 2 gange om ugen**Post-Thaw Recovery** Efter optøning skal cellerne udplades med 5×10^4 celler/cm², og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 48 timer.**Freeze medium** Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.**Thawing and Culturing Cells**

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, befugtet atmosfære.**Flask Coating** Ingen

WI 38 VA13 sublinje 2RA-celler | 300421

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturene daglige visuelle inspektioner.