Product sheet

WI 38 VA13 υποκατηγορία 2RA Κύτταρα | 300421

Γενικές πληροφορίες

Description	Η υποκατηγορία 2RA του WI-38 VA13, που προέρχεται από την ιστορική κυτταρική σειρά WI-38, η οποία αρχικά προήλθε από τον πνευμονικό ιστό ενός εμβρύου ηλικίας 3 μηνών, αποτελεί σημαντική πρόοδο στην τεχνολογία κυτταροκαλλιέργειας. Η αρχική κυτταρική σειρά WI-38 ήταν ζωτικής σημασίας για την ανάπτυξη εμβολίων για πολυάριθμες ιογενείς ασθένειες, όπως η ιλαρά, η παρωτίτιδα, η ερυθρά και η ηπατίτιδα Α. Η υπογραμμή VA13 2RA είναι μια αθάνατη παραλλαγή αυτής της κυτταρικής σειράς, η οποία επιτεύχθηκε μέσω μετασχηματισμού με τον ιό Simian Virus 40 (SV40), μια πρακτική που συνηθίζεται στην ανάπτυξη αθάνατων κυτταρικών σειρών, η οποία επιτρέπει τον απεριόριστο πολλαπλασιασμό των κυττάρων πέραν του τυπικού σημείου γήρανσης των περίπου 50 διπλασιασμών του πληθυσμού. Η ενσωμάτωση του SV40 στα κύτταρα WI-38 για τη δημιουργία της υπογραμμής VA13 2RA παρατείνει τη διάρκεια ζωής των κυττάρων, παρέχοντας ένα πιο ανθεκτικό μοντέλο για μακροχρόνια πειράματα. Αυτός ο μετασχηματισμός διατηρεί τις θεμελιώδεις ιδιότητες των αρχικών διπλοειδών κυττάρων, αλλά μεταβάλλει τον κύκλο ζωής και τα πρότυπα ανάπτυξής τους, επιτρέποντας τη διαρκή ανάπτυξη και διευκολύνοντας εκτεταμένες μελέτες που δεν ήταν δυνατές με την πεπερασμένη διάρκεια ζωής της μητρικής κυτταρικής σειράς. Αυτό καθιστά την υπογραμμή VA13 ιδιαίτερα χρήσιμη σε συνεχείς και εκτεταμένους ερευνητικούς τομείς, όπως η ιολογία, η φαρμακολογία και η γενετική έρευνα, όπου απαιτούνται εκτεταμένες περίοδοι παρατήρησης.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Πνεύμονας
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

Χαρακτηριστικά

Age	3 μήνες κύησης
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	Επιθηλιοειδής
Cell type	Ινοβλάστες
Growth properties	Προσκολλημένο

WI 38 VA13 υποκατηγορία 2RA Κύτταρα | 300421

Ρυθμιστικά δεδομένα

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

Βιομοριακά δεδομένα

Isoenzymes	G6PD, B
Viruses	Περιέχει τον ιό Papovavirus
Virus susceptibility	Απλός έρπης, φυσαλιδώδης στοματίτιδα (Indiana), ιός της πολιομυελίτιδας 2
Reverse transcriptase	Αρνητικό
Karyotype	Υπερδιπλοειδής, αριθμός Modal: 73-78

Χειρισμός

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

WI 38 VA13 υποκατηγορία 2RA Κύτταρα | 300421

Seeding density	1 x 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	1 έως 2 φορές την εβδομάδα
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5 x 10^4 κύτταρα/cm^2 και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 48 ώρες.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

WI 38 VA13 υποκατηγορία 2RA Κύτταρα | 300421

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Flask Coating	Κανένα
Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.