

## WI 38 VA13 alamliini 2RA rakud WI 38 VA13 alamliini 2RA rakud | 300421

### Üldine teave

#### Description

WI-38 VA13 alamliin 2RA, mis on tuletatud ajaloolisest WI-38 rakuliinist, mis on algselt saadud 3 kuu vanuse loote kopsukoos, kujutab endast olulist arengut rakukultuuritehnoloogias. Algne WI-38 rakuliin oli oluline paljude viirushaiguste, näiteks leetrite, mumps, punetiste ja hepatiidi A vaktsiinide väljatöötamisel. VA13 alamliin 2RA on selle rakuliini immortaliseeritud variant, mis on saavutatud simian viiruse 40 (SV40) transformatsiooniga, mis on surematute rakuliinide väljatöötamisel levinud meetod, mis võimaldab rakkude piiramatut paljunemist pärast standardset vananemispunkti, mis on umbes 50 populatsiooni kahekordistumist.

SV40 lisamine WI-38 rakkudesse, et luua VA13 alamliin 2RA, pikendab rakkude eluiga, pakkudes vastupidavat mudelit pikaajalisteks katsetusteks. See transformatsioon säilitab algsete diploidsete rakkude põhiomadused, kuid muudab nende elutsükli ja kasvumustreid, võimaldades püsivat kasvu ja hõlbustades ulatuslikke uuringuid, mis ei olnud võimalik algse rakuliini piiratud eluea korral. See muudab VA13 alamliini eriti kasulikuks käimasolevates ja ulatuslikes uurimisvaldkondades, sealhulgas viroloogia, farmakoloogia ja geneetilised uuringud, kus on vaja pikemaajalisi vaatlusperioode.

**Organism** Inimene

**Tissue** Kopsud

**Synonyms** WI 38 VA-13 alamliin 2RA, WI 38VA13 alamliin 2RA, WI-38 VA13 sub 2 RA, WI38-VA13 alamliin 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

### Omadused

**Age** 3 kuud rasedus

**Gender** Naised

**Ethnicity** Kaukaasia

**Morphology** Epiteelilaadsed

**Cell type** Fibroblastide

**Growth properties** Kinnipeetav

### Regulatiivsed andmed

**Citation** WI 38 VA13 alamliin 2RA (Cytioni katalooginumber 300421)

**WI 38 VA13 alamliini 2RA rakud WI 38 VA13 alamliini 2RA rakud | 300421****Biosafety level** 2**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_2759**Biomolekulaarsed andmed****Isoenzymes** G6PD, B**Viruses** Sisaldab papoviirust**Virus susceptibility** Herpes simplex, vesikulaarne stomatiit (Indiana), polioviiirus 2**Reverse transcriptase** Negatiivne**Karyotype** Hüperdiploidne, modaalne arv: 73-78**Töötlemine****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 1 kuni 2 korda nädalas

**WI 38 VA13 alamliini 2RA rakud WI 38 VA13 alamliini 2RA rakud | 300421****Post-Thaw Recovery**

Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega  $5 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup> ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 48 tunni jooksul.

**Freeze medium**

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Veenduge, et vialal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation Atmosphere**

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Freezing Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**WI 38 VA13 alamliini 2RA rakud WI 38 VA13 alamliini 2RA  
rakud | 300421**

**Shipping  
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage  
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

**Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA**

**Sterility**

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.