Product sheet

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 kopsukoes, kujutab endast olulist edasiminekut rakukultuuritehnoloogias. Algne WI-38 rakuliin oli oluline paljude viirushaiguste, näiteks leetrite, mumpsi, 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 vastupidavamat mudelit pikaajalisteks katsetusteks. See transformatsioon säilitab algsete diploidsete rakkude põhiomadused, kuid muudab nende elutsüklit ja kasvumustreid, võimaldades püsivat kasvu ja hõlbustades ulatuslikke uuringuid, mis ei olnud võimalikud vanemrakuliini piiratud eluea korral. See muudab VA13 alamliini eriti kasulikuks käimasolevates ja ulatuslikes uurimisvaldkondades, sealhulgas viroloogia, farmakoloogia ja geneetilised uuringud, kus on vaja pikemaid 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 kataloginumber 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), polioviirus 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 NaHCO3, 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 x 10^4 rakku/cm^2
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 x $10^{4\ rakku}/cm^2$ 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 kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal 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 viaali 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 viaali 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. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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%$_{CO2}$, 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 viaalid 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 ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.