Product sheet

WI 38 VA13 2RA alvonal 2RA sejtek | 300421

Általános információk

Description	A WI-38 VA13 2RA alvonal, amely az eredetileg egy 3 hónapos magzat tüdőszövetéből származó történelmi WI-38 sejtvonalból származik, kulcsfontosságú előrelépést jelent a sejttenyésztési technológiában. Az eredeti WI-38 sejtvonal kulcsfontosságú volt számos vírusos betegség, például a kanyaró, a mumpsz, a rubeola és a hepatitis A elleni vakcinák kifejlesztésében. A VA13 2RA alvonal ennek a sejtvonalnak egy immortalizált változata, amelyet a Simian Virus 40 (SV40) vírussal történő transzformációval értek el, ami a halhatatlan sejtvonalak kifejlesztése során bevett gyakorlat, amely lehetővé teszi a sejtek korlátlan szaporodását a standard szeneszcenciaponton (kb. 50 populációs duplázódás) túl. Az SV40 beépítése a WI-38 sejtekbe a VA13 2RA alvonal létrehozásához meghosszabbítja a sejtek élettartamát, így tartósabb modellt biztosít a hosszú távú kísérletekhez. Ez az átalakítás megőrzi az eredeti diploid sejtek alapvető tulajdonságait, de megváltoztatja életciklusukat és növekedési mintázatukat, lehetővé téve a tartós növekedést és megkönnyítve olyan kiterjedt vizsgálatokat, amelyek az anyasejtvonal véges élettartama mellett nem voltak lehetségesek. Ez teszi a VA13 alvonalat különösen hasznossá a folyamatban lévő és kiterjedt kutatási területeken, beleértve a virológiát, a farmakológiát és a genetikai kutatásokat, ahol hosszabb megfigyelési időszakokra van szükség.
Organism	Emberi
Tissue	Tüdő
Synonyms	WI 38 VA-13 alvonal 2RA, WI 38VA13 alvonal 2RA, WI-38 VA13 sub 2 RA, WI38-VA13 alvonal 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

Jellemzők

Age	3 hónapos terhesség
Gender	Női
Ethnicity	Kaukázusi
Morphology	Epithelszerű
Cell type	Fibroblasztok
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

WI 38 VA13 2RA alvonal 2RA sejtek | 300421

Citation	WI 38 VA13 2RA alvonal (Cytion katalógusszám: 300421)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2759

Biomolekuláris adatok

Isoenzymes	G6PD, B
Viruses	Papovavírust tartalmaz
Virus susceptibility	Herpes simplex, hólyagos szájgyulladás (Indiana), gyermekbénulás vírus 2
Reverse transcriptase	Negatív
Karyotype	Hiperdiploid, Modális szám: 73-78

A kezelése

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Seeding density	1×10^{4} sejt/cm^2

WI 38 VA13 2RA alvonal 2RA sejtek | 300421

Fluid renewal	hetente 1-2 alkalommal
Post-Thaw Recovery	Felolvasztás után helyezze a sejteket 5 x 10^4 sejt/cm^2 sűrűséggel a lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felépüljenek a fagyasztási folyamatból, és legalább 48 órán át tapadjanak.
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.
Flask Coating	Nincs

WI 38 VA13 2RA alvonal 2RA sejtek | 300421

Freezing Procedure	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Shipping Conditions	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.