

WI 38 VA13 sublinea 2RA Cellule | 300421

Informazioni generali

Description

La sublinea 2RA WI-38 VA13, derivata dalla storica linea cellulare WI-38 originariamente ricavata dal tessuto polmonare di un feto di 3 mesi, rappresenta un progresso fondamentale nella tecnologia delle colture cellulari. La linea cellulare WI-38 originale è stata fondamentale per lo sviluppo di vaccini per numerose malattie virali, come il morbillo, la parotite, la rosolia e l'epatite A. La sublinea VA13 2RA è una variante immortalizzata di questa linea cellulare, ottenuta attraverso la trasformazione con il Simian Virus 40 (SV40), una pratica comune nello sviluppo di linee cellulari immortali che consente una replicazione cellulare indefinita oltre il punto di senescenza standard di circa 50 raddoppi di popolazione.

L'incorporazione dell'SV40 nelle cellule WI-38 per creare la sublinea VA13 2RA estende la durata di vita delle cellule, fornendo un modello più duraturo per esperimenti a lungo termine. Questa trasformazione mantiene le proprietà fondamentali delle cellule diploidi originali, ma ne altera il ciclo di vita e i modelli di crescita, consentendo una crescita sostenuta e facilitando studi approfonditi che non erano possibili con la durata limitata della linea cellulare madre. Ciò rende la sublinea VA13 particolarmente utile in aree di ricerca estese e in corso, tra cui la virologia, la farmacologia e la ricerca genetica, dove sono necessari periodi di osservazione prolungati.

Organism

Umano

Tissue

Polmone

Synonyms

WI 38 VA-13 sublinea 2RA, WI 38VA13 sublinea 2RA, WI-38 VA13 sub 2 RA, WI38-VA13 sublinea 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

Caratteristiche

Age

3 mesi di gestazione

Gender

Donna

Ethnicity

Caucasico

Morphology

Simile all'epitelio

Cell type

Fibroblasti

Growth properties

Aderente

Dati normativi

WI 38 VA13 sublinea 2RA Cellule | 300421**Citation** WI 38 VA13 sublinea 2RA (numero di catalogo Cytion 300421)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2759**Dati biomolecolari****Isoenzymes** G6PD, B**Viruses** Contiene Papovavirus**Virus susceptibility** Herpes simplex, stomatite vescicolare (Indiana), poliovirus 2**Reverse transcriptase** Negativo**Karyotype** Iperdiploide, numero modale: 73-78**Manipolazione****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (articolo Cytion numero 820100a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Split ratio Si consiglia un rapporto da 1:2 a 1:10

WI 38 VA13 sublinea 2RA Cellule | 300421

Seeding density 1×10^4 cellule/cm²

Fluid renewal da 1 a 2 volte alla settimana

Post-Thaw Recovery Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5×10^4 cellule/cm² e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 48 ore.

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

WI 38 VA13 sublinea 2RA Cellule | 300421

Flask Coating Nessuno**Freezing Procedure**

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare**Sterility**

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo STR

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 10,12
D13S317: 11
D16S539: 11,12
D5S818: 10
D7S820: 9,11
TH01: 9.3
TPOX: 8
vWA: 19,20
D3S1358: 16,17
D21S11: 30,30.2
D18S51: 16,18
Penta E: 13,14
Penta D: 13
D8S1179: 14
FGA: 22,24