Product sheet

WI 38 VA13 sublinijos 2RA ląstelės | 300421

Bendra informacija

Description	WI-38 VA13 sublinija 2RA, išvesta iš istorinės WI-38 ląstelių linijos, iš pradžių gautos iš 3 mėnesių amžiaus vaisiaus plaučių audinio, yra esminis ląstelių kultūrų technologijos pasiekimas. Originali WI-38 ląstelių linija buvo labai svarbi kuriant vakcinas nuo daugelio virusinių ligų, pavyzdžiui, tymų, kiaulytės, raudonukės ir hepatito A. VA13 sublinija 2RA yra nemortizuotas šios ląstelių linijos variantas, gautas transformuojant ją Simian Virus 40 (SV40) virusu - tai įprasta nemirtingų ląstelių linijų kūrimo praktika, leidžianti neribotą ląstelių replikaciją, viršijančią standartinį senėjimo tašką - maždaug 50 populiacijos padvigubėjimų. SV40 įterpimas į WI-38 ląsteles, kad būtų sukurta VA13 sublinija 2RA, prailgina ląstelių gyvavimo trukmę, todėl jos tampa patvaresniu modeliu ilgalaikiams eksperimentams. Ši transformacija išlaiko pagrindines pradinių diploidinių ląstelių savybes, tačiau pakeičia jų gyvenimo ciklą ir augimo modelius, todėl jos gali nuolat augti ir palengvina išsamius tyrimus, kurie buvo neįmanomi dėl ribotos pradinės ląstelių linijos gyvavimo trukmės. Dėl to VA13 sublinija ypač naudinga tęstinių ir plataus masto tyrimų srityse, įskaitant virusologiją, farmakologiją ir genetinius tyrimus, kur reikia ilgesnių stebėjimo laikotarpių.
Organism	Žmogus
Tissue	Plaučiai
Synonyms	WI 38 VA-13 sublinija 2RA, WI 38VA13 sublinija 2RA, WI-38 VA13 sub 2 RA, WI38 VA13 sublinija 2RA, WI38 VA13/2RA, WI38 VA13/2RA, WI38VA13/2RA, VA13 2RA, WI-38 VA13, WI 38 VA 13, WI38-VA13, WI38/VA13, WI38VA13, VA-13, VA13, AG07217, AG7217

Charakteristikos

Age	3 nėštumo mėnesiai
Gender	Moteris
Ethnicity	Kaukaziečių
Morphology	Į epitelį panašus
Cell type	Fibroblastai
Growth properties	Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	WI 38 VA13 sublinija 2RA (Cytion katalogo numeris 300421)

WI 38 VA13 sublinijos 2RA ląstelės | 300421

Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2759

Biomolekuliniai duomenys

Isoenzymes	G6PD, B
Viruses	Sudėtyje yra papovaviruso
Virus susceptibility	Paprastoji pūslelinė, vezikulinis stomatitas (Indiana), poliovirusas 2
Reverse transcriptase	Neigiamas
Karyotype	Hiperdiploidinis, Modalinis skaičius: 73-78

Tvarkymas

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Seeding density	1 x 10^4 ląstelės/cm^2
Fluid renewal	1-2 kartus per savaitę

WI 38 VA13 sublinijos 2RA ląstelės | 300421

Post-Thaw Recovery	Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5 x 10^4 ląstelių/cm^2 tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 48 valandas.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.
Thawing and Culturing Cells	1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra. 2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti. 3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis. 4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu. 5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite. 6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais. 7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą. 8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra

WI 38 VA13 sublinijos 2RA ląstelės | 300421

Freezing Procedure	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.