Product sheet

WI 38 VA13 apakšlīnija 2RA šūnas | 300421

Vispārīga informācija

Description	WI-38 VA13 apakšlīnija 2RA, kas iegūta no vēsturiskās WI-38 šūnu līnijas, kura sākotnēji tika iegūta no 3 mēnešus veca augļa plaušu audiem, ir būtisks sasniegums šūnu kultūru tehnoloģijas jomā. Sākotnējā WI-38 šūnu līnija bija ļoti svarīga, izstrādājot vakcīnas pret daudzām vīrusu slimībām, piemēram, masalām, cūciņām, masaliņām un A hepatītu. VA13 apakšlīnija 2RA ir šīs šūnu līnijas nemortalizēts variants, kas iegūts, transformējot ar Simija vīrusu 40 (SV40), kas ir ierasta prakse nemirstīgu šūnu līniju izstrādē, kas ļauj neierobežoti ilgi replicēt šūnas, pārsniedzot standarta novecošanas punktu, kas ir aptuveni 50 populācijas dubultojumi. SV40 inkorporēšana WI-38 šūnās, lai izveidotu VA13 apakšlīniju 2RA, pagarina šūnu dzīves ilgumu, nodrošinot ilglaicīgāku modeli ilgtermiņa eksperimentiem. Šī transformācija saglabā sākotnējo diploīdo šūnu pamatīpašības, bet izmaina to dzīves ciklu un augšanas modeļus, nodrošinot ilgstošu augšanu un atvieglojot plašus pētījumus, kas nebija iespējami, izmantojot vecākās šūnu līnijas ierobežoto dzīves ilgumu. Tāpēc VA13 apakšlīnija ir īpaši noderīga ilgstošos un plašos pētījumos, tostarp virusoloģijā, farmakoloģijā un ģenētiskajos pētījumos, kur nepieciešami ilgstoši novērošanas periodi.
Organism	Cilvēks
Tissue	Plaušas
Synonyms	WI 38 VA-13 apakšlīnija 2RA, WI 38VA13 apakšlīnija 2RA, WI-38 VA13 apakšlīnija 2RA, WI-38 VA13 apakšlīnija 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

Raksturojums

Age	3 grūtniecības mēneši
Gender	Sievietes
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Epitēlijveidīgs
Cell type	Fibroblasti
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	WI 38 VA13 apakšlīnija 2RA (Cytion kataloga numurs 300421)

WI 38 VA13 apakšlīnija 2RA šūnas | 300421

Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2759

Biomolekulārie dati

Isoenzymes	G6PD, B
Viruses	Satur papovavīrusu
Virus susceptibility	Herpes simplex, vezikulārais stomatīts (Indiana), poliovīruss 2
Reverse transcriptase	Negatīvs
Karyotype	Hiperdiploīds, Modālais numurs: 73-78

Darbs ar

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Seeding density	1×10^4 šūnas/cm^2
Fluid renewal	1 līdz 2 reizes nedēļā

WI 38 VA13 apakšlīnija 2RA šūnas | 300421

Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas izkliedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5 x 10^4 šūnas/cm^2 un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 48 stundas.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus. 7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu. 8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens

WI 38 VA13 apakšlīnija 2RA šūnas | 300421

Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.