

Komórki WI 38 VA13 podlinii 2RA | 300421**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa WI-38 VA13 subline 2RA, pochodząca z historycznej linii komórkowej WI-38 pierwotnie pozyskanej z tkanki płucnej 3-miesięcznego płodu, stanowi kluczowy postęp w technologii hodowli komórkowej. Oryginalna linia komórkowa WI-38 miała kluczowe znaczenie w opracowywaniu szczepionek przeciwko licznym chorobom wirusowym, takim jak odra, świnka, różyczka i wirusowe zapalenie wątroby typu A. Podlinia VA13 2RA jest nieśmiertelnym wariantem tej linii komórkowej, uzyskanym poprzez transformację wirusem Simian Virus 40 (SV40), praktyką powszechną w rozwoju nieśmiertelnych linii komórkowych, która pozwala na nieokreśloną replikację komórek poza standardowym punktem starzenia wynoszącym około 50 podwojeń populacji.

Włączenie SV40 do komórek WI-38 w celu stworzenia podlinii VA13 2RA wydłuża żywotność komórek, zapewniając bardziej trwały model do długoterminowych eksperymentów. Ta transformacja zachowuje podstawowe właściwości oryginalnych komórek diploidalnych, ale zmienia ich cykl życia i wzorce wzrostu, umożliwiając trwały wzrost i ułatwiając szeroko zakrojone badania, które nie były możliwe przy ograniczonej żywotności macierzystej linii komórkowej. Sprawia to, że podlinia VA13 jest szczególnie przydatna w trwających i rozległych obszarach badawczych, w tym w wirusologii, farmakologii i badaniach genetycznych, gdzie konieczne są wydłużone okresy obserwacji.

Organism Człowiek**Tissue** Płuco**Synonyms** WI 38 VA-13 subline 2RA, WI 38VA13 subline 2RA, WI-38 VA13 sub 2 RA, WI38-VA13 subline 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**Charakterystyka****Age** 3 miesiące ciąży**Gender** Kobieta**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Podobny do nabłonka**Cell type** Fibroblast**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne**

Komórki WI 38 VA13 podlinii 2RA | 300421**Citation** WI 38 VA13 subline 2RA (numer katalogowy Cytion 300421)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2759**Dane biomolekularne****Isoenzymes** G6PD, B**Viruses** Zawiera wirus brodawczaka**Virus susceptibility** Herpes simplex, pęcherzykowe zapalenie jamy ustnej (Indiana), wirus polio 2**Reverse transcriptase** Negatywny**Karyotype** Hiperdiploidalny, liczba modalna: 73-78**Obsługa****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usun starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecane są proporcje od 1:2 do 1:10

Komórki WI 38 VA13 podlinii 2RA | 300421

Seeding density 1×10^4 komórek/cm²

Fluid renewal 1 do 2 razy w tygodniu

Post-Thaw Recovery Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 48 godzin, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć do podłoża.

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Komórki WI 38 VA13 podlinii 2RA | 300421

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, nawilżona atmosfera.

Flask Coating Brak

Freezing Procedure Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Komórki WI 38 VA13 podlinii 2RA | 300421

Profil 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