Product sheet

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 unieśmiertelnionym 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	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń 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. Odrzucić 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 x 10^4 kom^{órek}/cm^2
Fluid renewal	1 do 2 razy w tygodniu
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5 x 10^4 komórek/cm^2 i pozostaw je na co najmniej 48 godzin, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć 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 przepływowym, 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 fiolki 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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki 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 i analiza molekularna

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