Product sheet

WI 38 VA13 сублінія 2RA Клітини | 300421

Загальна інформація

Description	Сублінія 2RA WI-38 VA13, отримана з історичної клітинної лінії WI-38, яку було отримано з легеневої тканини 3-місячного плоду, є ключовим досягненням у технології клітинних культур. Оригінальна клітинна лінія WI-38 відіграла вирішальну роль у розробці вакцин проти багатьох вірусних захворювань, таких як кір, паротит, краснуха та гепатит А. Сублінія VA13 2RA є безсмертним варіантом цієї клітинної лінії, отриманим шляхом трансформації за допомогою вірусу мишей 40 (SV40), що є поширеною практикою в розробці безсмертних клітинних ліній, яка дозволяє безкінечну реплікацію клітин після стандартної точки старіння, що становить близько 50 подвоєнь популяції. Вбудовування SV40 в клітини WI-38 для створення сублінії VA13 2RA подовжує тривалість життя клітин, забезпечуючи більш довговічну модель для довготривалих експериментів. Ця трансформація зберігає фундаментальні властивості вихідних диплоїдних клітин, але змінює їх життєвий цикл і патерни росту, уможливлюючи стійкий ріст і полегшуючи широкі дослідження, які були б неможливими з обмеженою тривалістю життя батьківської лінії клітин. Це робить сублінію VA13 особливо корисною у тривалих і масштабних дослідженнях, включаючи вірусологію, фармакологію та генетичні дослідження, де необхідні тривалі періоди спостереження.
Organism	Людина
Tissue	Легені
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

Характеристики

Age	3 місяці вагітності
Gender	Жінка
Ethnicity	Кавказець
Morphology	Епітеліальноподібні
Cell type	Фібробласт
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

WI 38 VA13 сублінія 2RA Клітини | 300421

Citation	WI 38 VA13 сублінія 2RA (номер за каталогом Цитіон 300421)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2759

Біомолекулярні дані

Isoenzymes	G6PD, B
Viruses	Містить паповавірус
Virus susceptibility	Простий герпес, везикулярний стоматит (Індіана), поліовірус 2
Reverse transcriptase	Негативно
Karyotype	Гіпердиплоїдний, модальне число: 73-78

Обробка

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 мМ L-глутамін, w: 2,2 г/л NaHCO3, w: EBSS (цит. номер 820100a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Seeding density	1×10^{4} клітин/см2

WI 38 VA13 сублінія 2RA Клітини | 300421

Fluid renewal	1-2 рази на тиждень
Post-Thaw Recovery	Після розморожування висійте клітини з щільністю 5 x 10^4 клітин/^{см2} і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 48 годин.
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, занурivши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

WI 38 VA13 сублінія 2RA Клітини | 300421

Flask Coating	Ні
Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.