

Клетки RF/6A | 305150

Обща информация

Description

RF/6A е клетъчна линия от ендотелиални клетки на хориоидеята и ретината на макак резус (*Macaca mulatta*), получена от фетална тъкан на хориоидеята и ретината. Линията е регистрирана в Cellosaurus под номер CVCL_4552 и расте като адхезивен монослой с епителиоподобна морфология. Клетките RF/6A запазват ключови ендотелиални характеристики, включително експресия на фактор VIII (фактор на фон Вилебранд), фибронектин и гранули на Вайбел-Паладе, откриваеми чрез електронна микроскопия — като последните потвърждават тяхната ендотелиална идентичност. Линията първоначално е създадена за изследвания на васкуларизацията на ретината и хориоидеята и е широко приета като ендотелиален модел на примати за изследвания в областта на очната ангиогенеза.

RF/6A намира приложение в изследванията на очната ангиогенеза, проучванията на ретиналната и хориоидалната васкуларизация, оценката на антиангиогенни средства (инхибитори на VEGF, бевацизумаб, ранибизумаб), моделиране на възрастовата макулна дегенерация (AMD), биологията на диабетната ретинопатия и оценка на съдовата пропускливост в очното микроокружение. Произходът от нечовешки примати (NHP) прави RF/6A по-близка до биологията на ретиналните съдове при човека, отколкото ендотелиалните модели от гризачи, особено за изследвания, свързани с реакциите на специфични за приматите изоформи на VEGF и очна фармакология. Линията се използва често в тестове за образуване на тръбички, тестове за миграция и експерименти за стимулация с VEGF.

RF/6A се поддържа като адхезивна култура в EMEM, допълнен с 10% FBS и 1% NEAA, при 37°C във влажна атмосфера с 5% CO₂. Клетките се субкултивират с Accutase при 70–80% конfluентност, за да се предотврати контактната инхибиция и загубата на ендотелиалния фенотип. Съотношение на разделяне 1:3 до 1:5, плътност на засяване 1–2 × 10⁴ клетки/см². Средата се подновява 2–3 пъти седмично.

Organism

Макак резус

Tissue

Хориоидея, ретина

Disease

Нормален ендотелиум на ретината и хориоидеята (фетален; нетуморогенен)

Metastatic site

Неприложимо (нормална клетъчна линия от ендотелиални клетки на хориоидеята на ретината на плода)

Applications

Изследвания в областта на очната ангиогенеза; васкуларизация на ретината и хориоидеята; оценка на терапията с анти-VEGF средства (бевацизумаб, ранибизумаб); моделиране на възрастовата макулна дегенерация (AMD) и диабетната ретинопатия; тестове за образуване на тръбички; съдова пропускливост; модел на ендотелиалните клетки на ретината при примати от вида NHP

Характеристики

Age

Плод

Gender

Неуточнен пол

Клетки RF/6A | 305150

Ethnicity Неприложимо (клетъчна линия от нечовешки примати; Macaca mulatta)

Morphology Подобни на епител

Cell type Ендотелни клетки

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation RF/6A (каталожен номер 305150 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9544

CellosaurusAccession CVCL_4552

GMO Status Без генетична модификация; клетъчна линия от ендотелиални клетки на хориоидеята на ретината на плод от макак резус от див тип

Биомолекуларни данни

Protein expression Фактор , фибронектин

Работа с

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time приблизително 24 до 36 часа

Клетки RF/6A | 305150

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Split ratio от 1 до 5

Seeding density от 1 до 2×10^4 клетки/см²

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Post-Thaw Recovery След размразяване разпределете клетките в култура с плътност 5×10^4 клетки/см² и изчакайте поне 24 часа за прилепване, преди да извършите първата смяна на средата. Не позволявайте културите да достигнат пълна конfluентност, тъй като инхибицията на контакта може да намали ендотелния фенотип.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки RF/6A | 305150

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимицробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки RF/6A | 305150

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.