Product sheet

Клетки RF/6A | 305150

Обща информация

Description	RF/6A е клетъчна линия от ендотелиални клетки на ретината и хориоидеята на макак резус (Macaca mulatta), получена от фетална тъкан на хориоидеята и ретината. Линията 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 васкуларизацията на ретината и хориоидеята, 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 очната микросреда. Произходът от нечовешки примати (NHP) прави RF/6A по-близка до биологията на ретиналните съдове при човека, отколкото ендотелните 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.
Organism	Макак резус
Tissue	Хороидея, 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
Ethnicity	Неприложимо (клетъчна линия от нечовешки примати; Macaca mulatta)
Morphology	Подобни на епител

Клетки RF/6A | 305150

Cell type	Ендотелни клетки
Growth properties	Придържащи 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

Биомолекулярни 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
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.

Клетки RF/6A | 305150

Split ratio	от 1 до 5
Seeding density	от 1 до 2 × 10^4 клетки/$см^2$
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяване разпределете клетките в култура с плътност 5 × 10^4 клетки/$см^2$ и изчакайте поне 24 часа за прилепване, преди да извършите първата смяна на средата. Не позволявайте културите да достигнат пълна конфлуентност, 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 съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °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 антимикробен агент с температура 37°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 разбъркате 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%$_{CO2}$, 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 °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 в утвърдени, изолирани опаковки 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 и молекулярен анализ

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.