Product sheet

Κύτταρα RF/6A | 305150

Γενικές πληροφορίες

Description	Η RF/6A είναι μια κυτταρική σειρά ενδοθηλιακών κυττάρων του χοριοειδούς του αμφιβληστροειδούς του μακάκου ρέζους (Macaca mulatta), η οποία δημιουργήθηκε από εμβρυϊκό ιστό του χοριοειδούς και του αμφιβληστροειδούς. Η σειρά αναπτύσσεται ως προσκολλητική μονοστρωματική καλλιέργεια με μορφολογία παρόμοια με αυτή του επιθηλίου. Τα κύτταρα RF/6A διατηρούν βασικά ενδοθηλιακά χαρακτηριστικά, συμπεριλαμβανομένης της έκφρασης του Παράγοντα VIII (παράγοντας von Willebrand), της ινονεκτίνης και των κόκκων Weibel-Palade, οι οποίοι είναι ανιχνεύσιμοι με ηλεκτρονική μικροσκοπία — με τους τελευταίους να επιβεβαιώνουν την ενδοθηλιακή τους ταυτότητα. Η σειρά δημιουργήθηκε αρχικά για μελέτες της αγγειογένεσης του αμφιβληστροειδούς και της χοριοειδούς μεμβράνης και έχει υιοθετηθεί ευρέως ως μοντέλο ενδοθηλιακών κυττάρων πρωτευόντων για την έρευνα στην οφθαλμική αγγειογένεση. Η RF/6A μπορεί να εφαρμοστεί στην έρευνα της οφθαλμικής αγγειογένεσης, σε μελέτες της αγγειοποίησης του αμφιβληστροειδούς και του χοριοειδούς, στην αξιολόγηση αντι-αγγειογενετικών παραγόντων (αναστολείς VEGF, bevacizumab, ranibizumab), στη μοντελοποίηση της ηλικιακής εκφύλισης της ωχράς κηλίδας (AMD), στη βιολογία της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας και στην αξιολόγηση της αγγειακής διαπερατότητας στο οφθαλμικό μικροπεριβάλλον. Η προέλευσή του από μη ανθρώπινα πρωτεύοντα (NHP) καθιστά το RF/6A πιο κοντά στη βιολογία των αγγείων του ανθρώπινου αμφιβληστροειδούς σε σύγκριση με τα ενδοθηλιακά μοντέλα τρωκτικών, ιδίως για μελέτες που αφορούν τις ειδικές για τα πρωτεύοντα αντιδράσεις των ισομορφών του VEGF και την οφθαλμική φαρμακολογία. Η σειρά χρησιμοποιείται συνήθως σε δοκιμασίες σχηματισμού σωληναρίων, δοκιμασίες μετανάστευσης και πειράματα διέγερσης με VEGF.
Organism	Μακάκος Ρεσούς
Tissue	Χοριοειδής, αμφιβληστροειδής
Disease	Φυσιολογικό ενδοθήλιο του χοριοειδούς του αμφιβληστροειδούς (εμβρυϊκό· μη καρκινογόνο)
Metastatic site	Δεν ισχύει (φυσιολογική σειρά κυττάρων του ενδοθηλίου της χοριοειδούς του αμφιβληστροειδούς του εμβρύου)
Applications	Έρευνα στην οφθαλμική αγγειογένεση· αγγειοποίηση του αμφιβληστροειδούς και της χοριοειδούς· αξιολόγηση της θεραπείας με αντι-VEGF (bevacizumab, ranibizumab)· μοντελοποίηση της ηλικιακής εκφύλισης της ωχράς κηλίδας (AMD) και της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας· δοκιμασίες σχηματισμού σωληναρίων· αγγειακή διαπερατότητα· μοντέλο ενδοθηλίου του αμφιβληστροειδούς σε πρωτεύοντα θηλαστικά (NHP)

Χαρακτηριστικά

Age	Έμβρυο
Gender	Φύλο απροσδιόριστο
Ethnicity	Δεν ισχύει (κυτταρική σειρά πρωτευόντων μη ανθρώπινων ειδών· Macaca mulatta)

Κύτταρα RF/6A | 305150

Morphology	Επιθηλιοειδής
Cell type	Ενδοθηλιακά κύτταρα
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	RF/6A (αριθμός καταλόγου Cytion 305150)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_4552
GMO Status	Χωρίς γενετική τροποποίηση· σειρά κυττάρων ενδοθηλίου του χοριοειδούς του εμβρύου μακάκου ρέζους φυσικού τύπου

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	Παράγοντας VIII, ινωδονεκτίνη

Χειρισμός

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	περίπου 24 έως 36 ώρες

Κύτταρα RF/6A | 305150

Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Split ratio	1 έως 5
Seeding density	1 έως 2 × 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, μεταφέρετε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5 × 10^4 κύτταρα/cm^2 και αφήστε τα να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες πριν από την πρώτη αλλαγή του θρεπτικού μέσου. Μην αφήνετε τις καλλιέργειες να φτάσουν σε πλήρη σύγκλιση, καθώς η αναστολή επαφής ενδέχεται να μειώσει τον ενδοθηλιακό φαινότυπο.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα RF/6A | 305150

Thawing and Culturing Cells	1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά. 2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια. 3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου. 4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα. 5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά. 6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης. 7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων. 8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Flask Coating	Κανένα
Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα RF/6A | 305150

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.