

ARPE-19 rakud | 305025

Üldine teave

Description

ARPE-19 rakuliinil, mis on saadud 19-aastase mehe võrkkesta pigmentepiteelist (RPE), on funktsionaalsed omadused, mis sarnanevad emakeelsete RPE rakkude omadustega, mistõttu on see peamine epiteelirakkude mudel silmakliiniku uuringutes. Neid rakke kasutatakse selgroogsete võrkkesta ja võrkkesta pigmentepiteeli füsioloogiaga seotud uuringutes. Kui ARPE-19 rakke kasvatatakse 3D-rakukultuurisüsteemides või rakumonokihina lamiiniga kaetud filtritel madala seerumi sisaldusega keskkonnas, saavutavad nad morfoloogilise polarisatsiooni ja moodustavad tihedaid ühendusi, näidates transsepiteeli vastupanu, mis on sarnane in vivo täheldatud vastupanuga.

ARPE-19 rakud, mis ekspresseerivad RPE-spetsiifilisi markereid, nagu CRALBP ja RPE-65, on suurepärase mudel võrkkesta pigmendiepiteeli pigmentatsiooniprotsesside, sealhulgas melaniini sünteesi ja melanosoomide sisalduse mõistmiseks.

Inimese ARPE-19 rakkude kasutamine laieneb silmade farmakokineetika ja läbilaskvuse uuringutele, andes ülevaate silmade keemiaravi tõhususest ja võrkkesta barjääride kaalutlustest. Nende kasutamine farmakokineetika ja melaniinisalduse vaheliste vastastikmõjude uurimisel pakub väärtuslikke andmeid ravimi sidumise ja omastamise kohta. RPE-19 rakud aitavad kaasa meie arusaamisele võrkkesta ekspluateerimisest ja epiteeli rollist silma arengus, arvestades nende ekspressiooni võrgustikes, mis on seotud varase silma moodustamise ja lihaste kokkutõmbumisega.

Kokkuvõttes on ARPE-19 rakuliin oluline mudel silmauuringutes, andes ülevaate võrkkesta füsioloogiast, pigmentatsiooniprotsessidest ja silmaravi tõhususest.

Organism Inimene

Tissue Silm, võrkkesta pigmenditud epiteel, võrkkestas

Synonyms ARPE19, täiskasvanud võrkkesta pigmendi epiteeli rakuliin-19, NTC-200, NTC200

Omadused

Age 19 aastat

Gender Mees

Morphology Epiteel

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation ARPE-19 (Cytioni katalooginumber 305025)

ARPE-19 rakud | 305025

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0145**Biomolekulaarsed andmed****Protein expression** Rpe-spetsiifilised markerid Cralbp ja Rpe-65**Antigen expression** RPE-spetsiifilised markerid CRALBP ja RPE-65**Tumorigenic** Jah**Töötlemine****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820400a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

ARPE-19 rakud | 305025

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

ARPE-19 rakud | 305025

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.