

ARPE-19-solut | 305025

Yleisiä tietoja

Description

ARPE-19-solulinjalla, joka on peräisin 19-vuotiaan miehen verkkokalvon pigmenttiepiteelistä (RPE), on natiivien RPE-solujen kaltaisia toiminnallisia ominaisuuksia, mikä tekee siitä keskeisen epiteelisolumallin silmätutkimuksessa. Näitä soluja käytetään selkärankaisten verkkokalvoon ja verkkokalvon pigmenttiepiteelin fysiologiaan liittyvissä tutkimuksissa. Kun ARPE-19-soluja viljellään 3D-soluviljelyjärjestelmissä tai solumonokerroksina laminoidulla suodattimella ja vähäserumisessa väliaineessa, ne saavat morfologisen polarisaation ja muodostavat tiiviitä liitoksia, joilla on in vivo havaittua transepteliaalista resistenssiä vastaava resistenssi.

ARPE-19-solut, jotka ilmentävät RPE-spesifisiä merkkiaineita, kuten CRALBP:tä ja RPE-65:tä, toimivat erinomaisena mallina verkkokalvon pigmenttiepiteelin pigmentaatioprosessien, kuten melaniinisynteesin ja melanosomipitoisuuden, ymmärtämiseksi.

ARPE-19-ihmissolujen käyttö ulottuu myös silmän farmakokinetiikkaan ja läpäisevyystutkimuksiin, jolloin saadaan tietoa silmän kemoterapian tehokkuudesta ja verkkokalvon esteiden huomioon ottamisesta. Niiden käyttö farmakokinetiikan ja melaniinipitoisuuden välisten vuorovaikutusten tutkimisessa tarjoaa arvokasta tietoa lääkkeen sitoutumisesta ja imeytymisestä. RPE-19-solut edistävät osaltaan verkkokalvon läpivalaisuja ja epiteelin roolia silmän kehityksessä, koska ne ilmentävät verkostoja, jotka osallistuvat silmän varhaiseen muodostumiseen ja lihasten supistumiseen.

Yhteenvetona voidaan todeta, että ARPE-19-solulinja on tärkeä malli silmätutkimuksessa, sillä se tarjoaa tietoa verkkokalvon fysiologiasta, pigmentaatioprosesseista ja silmän hoitojen tehokkuudesta.

Organism Ihminen

Tissue Silmä, verkkokalvon pigmentti epiteeli, verkkokalvo

Synonyms ARPE19, Aikuisten verkkokalvon pigmenttiepiteelisolulinja-19, NTC-200, NTC200

Ominaisuudet

Age 19 vuotta

Gender Mies

Morphology Epiteeli

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation ARPE-19 (Cytionin luettelonumero 305025)

ARPE-19-solut | 305025

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0145**Biomolekyylitiedot****Protein expression** Rpe-spesifiset merkkiaineet Cralbp ja Rpe-65**Antigen expression** RPE-spesifiset merkkiaineet CRALBP ja RPE-65**Tumorigenic** Kyllä**Käsittely****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820400a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelunumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

ARPE-19-solut | 305025

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta $300 \times g$:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

ARPE-19-solut | 305025

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.