

RF/6A cellák | 305150

Általános információk

Description

Az RF/6A egy rhesus makákó (Macaca mulatta) retinális choroidális endoteliális sejtvonal, amelyet magzati choroidális és retinális szövetből állítottak elő. A sejtvonal adhezív monorétegként növekszik, epitheliumszerű morfológiával. Az RF/6A sejtek megőrzik a legfontosabb endoteliális jellemzőket, beleértve a VIII-as faktor (von Willebrand-faktor), a fibronektin és az elektronmikroszkóppal kimutatható Weibel-Palade-granulátumok expresszióját – ez utóbbi megerősíti endoteliális jellegüket. A vonalat eredetileg a retinális és choroidális vascularizáció vizsgálatára hozták létre, és széles körben alkalmazzák főemlős endoteliális modellként a szemészeti angiogenezis kutatásában.

Az RF/6A alkalmazható a szem angiogenezisének kutatásában, a retinális és choroidális érrendszer kialakulásának vizsgálatában, az antiangiogén szerek (VEGF-gátlók, bevacizumab, ranibizumab) értékelésében, az életkorral összefüggő makuladegeneráció (AMD) modellezésére, a diabéteszes retinopátia biológiájának vizsgálatára, valamint a szem mikrokörnyezetében fellépő érrendszeri permeabilitás értékelésére. A nem emberi főemlős (NHP) eredetnek köszönhetően az RF/6A közelebb áll az emberi retinális érrendszer biológiájához, mint a rágcsláló endoteliális modellek, különösen a főemlős-specifikus VEGF-izoformák reakcióit és a szemészeti farmakológiát vizsgáló kutatások esetében. A vonalat széles körben használják csőképződési vizsgálatokban, migrációs vizsgálatokban és VEGF-stimulációs kísérletekben.

Organism

Rhesus makákó

Tissue

Agyhártya, retina

Disease

Normális retinális choroidális endotélium (magzati; nem tumorogén)

Metastatic site

Nem alkalmazható (normális magzati retinális choroidális endoteliális sejtvonal)

Applications

A szem angiogenezisével kapcsolatos kutatások; a retinális és a choroidális érrendszer kialakulása; az anti-VEGF-terápia értékelése (bevacizumab, ranibizumab); az AMD és a diabéteszes retinopátia modellezése; csőképződési vizsgálatok; érrendszeri permeabilitás; NHP-főemlős retinális endoteliális modell

Jellemzők

Age

Magzat

Gender

Meghatározatlan nemű

Ethnicity

Nem alkalmazható (nem emberi főemlős sejtvonal; Macaca mulatta)

Morphology

Epithelszerű

Cell type

Endothel sejtek

RF/6A cellák | 305150

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Citation RF/6A (Cytion katalógusszám: 305150)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9544**CellosaurusAccession** CVCL_4552**GMO Status** Génmódosítás nélkül; vad típusú rhesus makákó magzati retinális choroidális endoteliális sejtvonal

Biomolekuláris adatok

Protein expression faktor, fibronectin

A kezelése

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)**Supplements** A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** kb. 24–36 óra**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Split ratio** 1–5

RF/6A cellák | 305150

Seeding density 1–2 × 10⁴ sejt/cm²

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

Post-Thaw Recovery Felolvasztás után a sejteket 5 × 10⁴ sejt/cm² sűrűséggel ültessük be a tenyésztőedénybe, és az első tápközcseré előtt legalább 24 órát várunk a tapadásra. Ne hagyjuk, hogy a tenyészetek teljes konfluenciát érjenek el, mivel a kontaktgátlás csökkentheti az endoteliális fenotípust.

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítjük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

RF/6A cellák | 305150

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, párasított légkör.

Flask Coating Nincs

Freezing Procedure A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.