

ARPE-19 šūnas | 305025

Vispārīga informācija

Description

ARPE-19 šūnu līnijai, kas iegūta no 19 gadus veca vīrieša tīklenes pigmenta epitēlija (RPE), ir funkcionālas īpašības, kas līdzīgas dabiskajām RPE šūnām, padarot to par galveno epitēlija šūnu modeli oftalmoloģijas pētījumos. Šīs šūnas tiek izmantotas pētījumos, kas saistīti ar mugurkaulnieku tīkleni un tīklenes pigmentepitēlija fizioloģiju. Kultivējot 3D šūnu kultūru sistēmās vai kā šūnu monoslānī uz filtriem ar lamināna pārklājumu, izmantojot barotni ar zemu seruma saturu, ARPE-19 šūnas sasniedz morfoloģisko polarizāciju un veido ciešus savienojumus, uzrādot transepiteliālo pretestību, kas līdzinās in vivo novērotajai.

ARPE-19 šūnas, kas ekspresē RPE specifiskus marķierus, piemēram, CRALBP un RPE-65, kalpo kā lielisks modelis, lai izprastu pigmentācijas procesus tīklenes pigmenta epitēlijā, tostarp melanīna sintēzi un melanosomu saturu.

ARPE-19 cilvēka šūnas var izmantot arī acu farmakokinētikas un caurlaidības pētījumos, sniedzot ieskatu acu ķīmijterapijas efektivitātes un tīklenes barjeru aspektos. To izmantošana farmakokinētikas un melanīna satura mijiedarbības izpētē sniedz vērtīgus datus par zāļu saistīšanos un uzņemšanu. RPE-19 šūnas veicina mūsu izpratni par tīklenes eksplantātiem un epitēlija lomu acs attīstībā, ņemot vērā to tīklojumu ekspresiju, kas iesaistīti agrīnā acs veidošanās procesā un muskuļu kontrakcijā.

Kopumā ARPE-19 šūnu līnija kalpo kā ļoti svarīgs modelis oftalmoloģiskajos pētījumos, sniedzot ieskatu tīklenes fizioloģijā, pigmentācijas procesos un acu ārstēšanas efektivitātē.

Organism

Cilvēks

Tissue

Acs, tīklenes pigmentētais epitēlijs, tīklene

Synonyms

ARPE19, Pieaugušo tīklenes pigmenta epitēlija šūnu līnija-19, NTC-200, NTC200

Raksturojums

Age

19 gadi

Gender

Vīrieši

Morphology

Epitēlija

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

ARPE-19 (Cytion kataloga numurs 305025)

Biosafety level

1

ARPE-19 šūnas | 305025

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0145

Biomolekulārie dati

Protein expression Rpe specifiskie marķieri Cralbp un Rpe-65**Antigen expression** RPE specifiskie marķieri CRALBP un RPE-65**Tumorigenic** Jā

Darbs ar

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanas un samazinātu krioinducēto stresu.

ARPE-19 šūnas | 305025

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

ARPE-19 šūnas | 305025

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.