

Bunky ARPE-19 | 305025**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia ARPE-19, odvodená z pigmentového epitelu sietnice (RPE) 19-ročného muža, má funkčné vlastnosti podobné natívnym bunkám RPE, vďaka čomu je kľúčovým modelom epitelových buniek v očnom výskume. Tieto bunky sa využívajú v štúdiách týkajúcich sa sietnice stavovcov a fyziológie pigmentového epitelu sietnice. Pri kultivácii v 3D systémoch bunkových kultúr alebo ako monovrstva buniek na laminálnom potiahnutých filtroch s médiom s nízkym obsahom séra dosahujú bunky ARPE-19 morfológickú polarizáciu a vytvárajú tesné spojenia, pričom vykazujú transepiteliálnu rezistenciu podobnú tej, ktorá sa pozoruje in vivo.

Bunky ARPE-19, ktoré exprimujú markery špecifické pre RPE, ako sú CRALBP a RPE-65, slúžia ako vynikajúci model na pochopenie pigmentačných procesov pigmentového epitelu sietnice vrátane syntézy melanínu a obsahu melanosómov.

Použitie ľudských buniek ARPE-19 sa rozširuje na štúdie očnej farmakokinetiky a priepustnosti, ktoré poskytujú poznatky o účinnosti očnej chemoterapie a o bariérach sietnice. Ich použitie pri skúmaní interakcií medzi farmakokinetikou a obsahom melanínu ponúka cenné údaje o väzbe a príjme liečiv. Bunky RPE-19 prispievajú k nášmu chápaniu explantátov sietnice a úlohy epitelu vo vývoji oka vzhľadom na ich expresiu sietí, ktoré sa podieľajú na včasnej tvorbe oka a kontrakcii svalov.

Celkovo možno konštatovať, že bunková línia ARPE-19 slúži ako rozhodujúci model v oftalmologickom výskume a ponúka poznatky o fyziológii sietnice, pigmentačných procesoch a účinnosti očnej liečby.

Organism Ľudské

Tissue Oko, pigmentový epitel sietnice, sietnica

Synonyms ARPE19, línia buniek pigmentu sietnice dospelých 19, NTC-200, NTC200

Charakteristika

Age 19 rokov

Gender Muži

Morphology Epitelové

Growth properties Adherent

Regulačné údaje

Citation ARPE-19 (katalógové číslo Cytion 305025)

Bunky ARPE-19 | 305025**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0145**Biomolekulárne údaje****Protein expression** Markery špecifické pre Rpe Cralbp a Rpe-65**Antigen expression** Špecifické markery RPE CRALBP a RPE-65**Tumorigenic** Áno**Spracovanie****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-glutamínu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky ARPE-19 | 305025**Thawing and
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky ARPE-19 | 305025

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.