

Celice RF/6A | 305150

Splošne informacije

Description

RF/6A je linija endotelijskih celic horioideje mrežnice makaka rhesusa (*Macaca mulatta*), vzpostavljena iz tkiva horioideje in mrežnice ploda. Linija je v bazi podatkov Cellosaurus registrirana pod oznako CVCL_4552 in raste kot adhezivni monosloj z epitelijsko podobno morfologijo. Celice RF/6A ohranjajo ključne endotelne značilnosti, vključno z izražanjem faktorja VIII (von Willebrandovega faktorja), fibronektina in Weibel-Paladejevih granul, ki jih je mogoče zaznati z elektronskim mikroskopom – slednje potrjuje njihovo endotelno identiteto. Linija je bila prvotno vzpostavljena za študije vaskularizacije mrežnice in horioideje ter se je široko uveljavila kot model endotelijskih celic primatov za raziskave očesne angiogeneze.

RF/6A se uporablja v raziskavah očesne angiogeneze, študijah vaskularizacije mrežnice in horioideje, pri ocenjevanju antiangiogenih sredstev (zaviralci VEGF, bevacizumab, ranibizumab), modeliranje starostne makularne degeneracije (AMD), biologijo diabetične retinopatije ter oceno vaskularne permeabilnosti v očesnem mikrookolju. Ker izvira iz nečloveških primatov (NHP), je linija RF/6A bližje biologiji človeških mrežničnih žil kot endotelijski modeli glodalcev, zlasti pri študijah, ki vključujejo odzive na izoforme VEGF, specifične za primata, ter očesno farmakologijo. Linija se pogosto uporablja v testih tvorbe cevč, testih migracije in poskusih stimulacije z VEGF.

RF/6A se goji kot adhezivna kultura v gojišču EMEM, dopolnjenem z 10 % FBS in 1 % NEAA, pri 37 °C v vlažni atmosferi s 5 % CO₂. Celice se subkultivirajo z Accutase pri 70–80 % konfluenci, da se prepreči kontaktna inhibicija in izguba endotelijskega fenotipa. Razmerje delitve je 1:3 do 1:5, gostota posejanja pa 1–2 × 10⁴ celic/cm². Gojišče se obnavlja 2–3-krat na teden.

Organism

Makak rezus

Tissue

Horoid, mrežnica

Disease

Normalni endotel mrežnice in horioideje (plodovni; netumorigeničen)

Metastatic site

Ni relevantno (normalna linija celic endotelija horioideje plodove mrežnice)

Applications

Raziskave na področju očesne angiogeneze; vaskularizacija mrežnice in horioideje; ocena terapije z anti-VEGF zdravili (bevacizumab, ranibizumab); modeliranje AMD in diabetične retinopatije; preskusi tvorbe cevč; vaskularna permeabilnost; model endotelija mrežnice pri primatih NHP

Značilnosti

Age

Plod

Gender

Spol neopredeljen

Ethnicity

Ni relevantno (celična linija nečloveških primatov; *Macaca mulatta*)

Morphology

Epitelijam podobni

Celice RF/6A | 305150**Cell type** Endotelijske celice**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** RF/6A (kataloška številka Cytion 305150)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9544**CellosaurusAccession** CVCL_4552**GMO Status** Brez genske modifikacije; celična linija endotelijskih celic horioideje plodne mrežnice makaka rhesus divjega tipa**Biomolekularni podatki****Protein expression** Faktor , fibronektin**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** približno 24 do 36 ur**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Celice RF/6A | 305150**Split ratio** 1 do 5**Seeding density** 1 do 2×10^4 celic/cm²**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Post-Thaw Recovery** Po odmrznitvi celice razporedite po ploščah v gostoti 5×10^4 celic/cm² in pred prvo zamenjavo gojišča počakajte vsaj 24 ur, da se celice prilepijo. Ne dopustite, da bi kulture dosegle popolno konfluenco, saj lahko kontaktna inhibicija zmanjša endoteljski fenotip.**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenga s kriom.**Thawing and Culturing Cells**

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Celice RF/6A | 305150

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, vlažno ozračje.

Flask Coating Nič

Freezing Procedure Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.