Product sheet

Елементи RF/6A | 305150

Загальна інформація

Description	RF/6A — це лінія клітин ендотелію хоріоїдеї сітківки макаки-резуса (Macaca mulatta), отримана з тканин хоріоїдеї та сітківки плода. Лінія росте у вигляді адгезивного моношару з епітеліоподібною морфологією. Клітини RF/6A зберігають ключові характеристики ендотелію, включаючи експресію фактора VIII (фактора фон Віллебранда), фібронектину та гранул Вайбеля-Паладе, виявляних за допомогою електронної мікроскопії — останнє підтверджує їхню ендотеліальну природу. Спочатку лінія була створена для досліджень васкуляризації сітківки та хоріоїдеї і широко застосовується як модель ендотелію приматів для досліджень очної ангіогенезу. RF/6A застосовується в дослідженнях очного ангіогенезу, вивченні васкуляризації сітківки та хоріоїдеї, оцінці антиангіогенних засобів (інгібіторів VEGF, бевацизумабу, ранібізумабу), моделювання вікової макулярної дегенерації (ВМД), біології діабетичної ретинопатії та оцінки судинної проникності в мікросередовищі ока. Походження від нелюдських приматів (NHP) робить RF/6A ближчою до біології судин сітківки людини, ніж ендотеліальні моделі гризунів, особливо для досліджень, що стосуються специфічних для приматів реакцій на ізоформи VEGF та очної фармакології. Цю лінію зазвичай використовують у тестах на утворення трубочок, тестах на міграцію та експериментах зі стимуляцією VEGF.
Organism	Макака-резус
Tissue	Судинна оболонка, сітківка
Disease	Нормальний ендотелій хоріоїдеї сітківки (фетальний; непухлинний)
Metastatic site	Не застосовується (нормальна лінія клітин ендотелію хоріоїдеї сітківки плода)
Applications	Дослідження очного ангіогенезу; васкуляризація сітківки та хоріоїдеї; оцінка терапії анти-VEGF (бевацизумаб, ранібізумаб); моделювання вікової макулярної дегенерації (ВМД) та діабетичної ретинопатії; аналізи утворення трубочок; проникність судин; модель ендотелію сітківки приматів NHP

Характеристики

Age	Плід
Gender	Стать не визначена
Ethnicity	Не застосовується (клітинна лінія приматів, що не належать до роду Homo; Macaca mulatta)
Morphology	Епітеліальноподібні
Cell type	Ендотеліальні клітини

Елементи RF/6A | 305150

Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	RF/6A (номер за каталогом Cytion 305150)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_4552
GMO Status	Без генетичної модифікації; лінія клітин ендотелію хоріоїдеї сітківки плода макаки-резуса дикого типу

Біомолекулярні дані

Protein expression	Фактор l_2167 , фібронектин

Обробка

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 мМ L-глутамін, w: 2,2 г/л NaHCO3, w: EBSS (цит. номер 820100a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS та 1% NEAA
Dissociation Reagent	Аккутаза
Doubling time	приблизно від 24 до 36 годин
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Split ratio	від 1 до 5

Елементи RF/6A | 305150

Seeding density	від 1 до 2 × 10^4 клітин/$см^2$
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Post-Thaw Recovery	Після розморожування висійте клітини з щільністю 5 × 10^4 клітин/$см^2$ і дайте їм прикріпитися протягом щонайменше 24 годин перед першою заміною середовища. Не допускайте повного злиття клітинних культур, оскільки інгібування контакту може призвести до зниження ендотеліального фенотипу.
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.
Thawing and Culturing Cells	1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування. 2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування. 3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка. 4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям. 5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи. 6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища. 7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин. 8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Елементи RF/6A | 305150

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Flask Coating	Ні
Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.