Product sheet

Tế bào RF/6A | 305150

Thông tin chung

Description	RF/6A là dòng tế bào nội mô màng mạch và võng mạc của khỉ rhesus (Macaca mulatta), được phân lập từ mô màng mạch và võng mạc của thai nhi. Dòng tế bào này phát triển dưới dạng lớp đơn bám dính với hình thái giống biểu mô. Các tế bào RF/6A vẫn giữ được các đặc điểm chính của tế bào nội mô, bao gồm sự biểu hiện của Yếu tố VIII (yếu tố von Willebrand), fibronectin và các hạt Weibel-Palade có thể phát hiện được bằng kính hiển vi điện tử — yếu tố cuối cùng này xác nhận bản chất nội mô của chúng. Dòng tế bào này ban đầu được thiết lập để nghiên cứu quá trình hình thành mạch máu ở võng mạc và màng mạch, và đã được sử dụng rộng rãi như một mô hình tế bào nội mô linh trưởng cho nghiên cứu hình thành mạch máu ở mắt. RF/6A có thể ứng dụng trong nghiên cứu hình thành mạch máu ở mắt, nghiên cứu quá trình hình thành mạch máu ở võng mạc và màng mạch, đánh giá các chất ức chế hình thành mạch máu (chất ức chế VEGF, bevacizumab, ranibizumab), mô hình hóa thoái hóa điểm vàng liên quan đến tuổi (AMD), sinh học bệnh võng mạc do tiểu đường, và đánh giá tính thấm mạch máu trong môi trường vi mô của mắt. Vì có nguồn gốc từ linh trưởng không phải người (NHP), RF/6A gần gũi hơn với sinh học mạch máu võng mạc của con người so với các mô hình tế bào nội mô của loài gặm nhấm, đặc biệt là đối với các nghiên cứu liên quan đến phản ứng của các đồng dạng VEGF đặc trưng ở linh trưởng và dược lý học mắt. Dòng tế bào này thường được sử dụng trong các thử nghiệm hình thành ống, thử nghiệm di chuyển và các thí nghiệm kích thích VEGF.
Organism	Khỉ Rhesus
Tissue	Màng mạch, võng mạc
Disease	Tế bào nội mô màng mạch võng mạc bình thường (của thai nhi; không gây ung thư)
Metastatic site	Không áp dụng (dòng tế bào nội mô màng mạch võng mạc thai nhi bình thường)
Applications	Nghiên cứu về quá trình hình thành mạch máu ở mắt; quá trình hình thành mạch máu ở võng mạc và màng mạch; đánh giá liệu pháp ức chế VEGF (bevacizumab, ranibizumab); mô phỏng bệnh thoái hóa điểm vàng (AMD) và bệnh võng mạc do tiểu đường; các thử nghiệm hình thành ống; tính thấm mạch máu; mô hình tế bào nội mô võng mạc trên linh trưởng NHP

Đặc điểm

Age	Thai nhi
Gender	Giới tính không xác định
Ethnicity	Không áp dụng (dòng tế bào linh trưởng không phải người; Macaca mulatta)
Morphology	Tương tự biểu mô
Cell type	Tế bào nội mô

Tế bào RF/6A | 305150

Growth properties	Người tuân thủ

Dữ liệu quy định

Citation	RF/6A (Số catalog Cytion 305150)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_4552
GMO Status	Không biến đổi gen; dòng tế bào nội mô màng mạch võng mạc thai nhi khỉ rhesus kiểu hoang dã

Dữ liệu sinh học phân tử

Protein expression	Yếu tố ⊠, Fibronectin

Xử lý

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), chứa: 2 mM L-Glutamine, chứa: 2,2 g/L $NaHCO_3$, chứa: EBSS (Số hiệu sản phẩm Cytion 820100a)
Supplements	Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 10% huyết thanh bò phôi (FBS) và 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	khoảng 24 đến 36 giờ
Subculturing	Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.
Split ratio	1 đến 5

Tế bào RF/6A | 305150

Seeding density	1 đến 2 × 10^4 tế bào/cm^2
Fluid renewal	2 đến 3 lần mỗi tuần
Post-Thaw Recovery	Sau khi rã đông, cấy tế bào với mật độ 5 × 10^4 tế bào/cm^2 và để tế bào bám dính ít nhất 24 giờ trước khi thay môi trường nuôi cấy lần đầu. Không để các mẫu nuôi cấy đạt đến trạng thái phủ kín hoàn toàn vì hiện tượng ức chế tiếp xúc có thể làm giảm biểu hiện kiểu hình nội mô.
Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.
Thawing and Culturing Cells	1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển. 2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức. 3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ. 4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở. 5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ. 6. Ly tâm hỗn hợp ở 300 x g trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại. 7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả. 8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO_2}$, môi trường ẩm.

Tế bào RF/6A | 305150

Flask Coating	Không có
Freezing Procedure	Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.
Shipping Conditions	Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.
Storage Conditions	Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng −150 đến −196 °C. Việc bảo quản ở −80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng và phân tích phân tử

Sterility	Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang. Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.