

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 được đăng ký trên Cellosaurus với mã CVCL_4552 và 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 biểu hiện 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 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 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 từ loài gặm nhấm, đặc biệt là trong các nghiên cứu liên quan đến phản ứng của các đồng dạng VEGF đặc trưng cho linh trưởng và được 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 bằng VEGF.

RF/6A được nuôi cấy bám dính trong môi trường EMEM bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) và 1% axit amin không thiết yếu (NEAA) ở 37°C trong môi trường có độ ẩm và nồng độ CO₂ 5%. Các tế bào được nuôi cấy lại bằng Accutase khi đạt độ phủ 70–80% để ngăn chặn hiện tượng ức chế tiếp xúc và mất kiểu hình nội mô. Tỷ lệ phân chia 1:3 đến 1:5, mật độ gieo 1–2 × 10⁴ tế bào/cm². Thay môi trường nuôi cấy 2–3 lần mỗi tuần.

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*)

Tế bào RF/6A | 305150**Morphology** Tương tự biểu mô**Cell type** Tế bào nội mô**Growth properties** Người tuấn 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 β , Fibronectin**Xử lý****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), chứa: 2 mM L-Glutamine, chứa: 2,2 g/L NaHCO₃, 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.

Tế bào RF/6A | 305150**Split ratio** 1 đến 5**Seeding density** 1 đến 2×10^4 tế bào/cm²**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/cm² 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.

Tế bào RF/6A | 305150

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , môi trường ẩm.

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 / Hồ sơ di truyền / HLA

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.