

RF/6A-Zellen | 305150

Allgemeine Informationen

Description

RF/6A ist eine aus fötalem Aderhaut- und Netzhautgewebe etablierte Endothelzelllinie der Aderhaut der Netzhaut des Rhesusmakaken (*Macaca mulatta*). Die Zelllinie wächst als adhärente Monoschicht mit epithelähnlicher Morphologie. RF/6A-Zellen weisen wichtige endotheliale Merkmale auf, darunter die Expression von Faktor VIII (von-Willebrand-Faktor), Fibronektin und Weibel-Palade-Granula, die elektronenmikroskopisch nachweisbar sind – wobei letztere ihre endotheliale Identität bestätigen. Die Zelllinie wurde ursprünglich für Untersuchungen zur Vaskularisierung der Netzhaut und der Aderhaut etabliert und hat sich als Primaten-Endothelmodell für die Forschung zur okulären Angiogenese weit verbreitet.

RF/6A eignet sich für die Forschung zur okulären Angiogenese, für Untersuchungen zur Vaskularisierung der Netzhaut und der Aderhaut, zur Bewertung von antiangiogenen Wirkstoffen (VEGF-Hemmer, Bevacizumab, Ranibizumab), zur Modellierung der altersbedingten Makuladegeneration (AMD), zur Erforschung der Biologie der diabetischen Retinopathie sowie zur Beurteilung der Gefäßpermeabilität in der mikrovaskulären Umgebung des Auges. Aufgrund seiner Herkunft aus nicht-menschlichen Primaten (NHP) ist RF/6A der Biologie der menschlichen Netzhautgefäße näher als Endothelmodelle aus Nagetieren, insbesondere für Studien zu primatenspezifischen Reaktionen auf VEGF-Isoformen und zur Augenpharmakologie. Die Zelllinie wird häufig in Röhrenbildungstests, Migrationstests und VEGF-Stimulationsexperimenten eingesetzt.

Organism

Rhesusaffen

Tissue

Aderhaut, Netzhaut

Disease

Normales Aderhautendothel der Netzhaut (fötal; nicht tumorogen)

Metastatic site

Nicht zutreffend (normale fetale Netzhaut-Aderhaut-Endothelzelllinie)

Applications

Forschung zur okulären Angiogenese; Vaskularisierung der Netzhaut und der Aderhaut; Bewertung der Anti-VEGF-Therapie (Bevacizumab, Ranibizumab); Modellierung von AMD und diabetischer Retinopathie; Tubusbildungsassays; Gefäßpermeabilität; Netzhautendothelmodell bei nichtmenschlichen Primaten (NHP)

Merkmale

Age

Fötus

Gender

Geschlecht nicht spezifiziert

Ethnicity

Nicht zutreffend (Zelllinie eines nicht-menschlichen Primaten; *Macaca mulatta*)

Morphology

Epithelähnlich

Cell type

Endothelzellen

RF/6A-Zellen | 305150

Growth properties

Adhärent

Regulatorische Daten**Citation**

RF/6A (Cytion Katalognummer 305150)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9544

CellosaurusAccession

CVCL_4552

GMO Status

Keine genetische Veränderung; Wildtyp-Endothelzelllinie aus der Aderhaut der Netzhaut eines Rhesusaffen-Fötus

Biomolekulare Daten**Protein expression**

Faktor , Fibronectin

Handhabung**Culture Medium**EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion-Artikelnummer 820100a)**Supplements**

Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS und 1% NEAA

Dissociation Reagent

Accutase

Doubling time

ca. 24 bis 36 Stunden

Subculturing

Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Split ratio

1 bis 5

RF/6A-Zellen | 305150

Seeding density 1 bis 2×10^4 Zellen/cm²

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

Post-Thaw Recovery Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5×10^4 Zellen/cm² ausplattieren und vor dem ersten Mediumwechsel mindestens 24 Stunden für die Adhäsion einplanen. Die Kulturen dürfen keine vollständige Konfluenz erreichen, da eine Kontaktinhibition den endothelialen Phänotyp beeinträchtigen kann.

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

RF/6A-Zellen | 305150

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating Keine

Freezing Procedure Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.