

**Células RF/6A | 305150****Información general**

<b>Description</b>	Los gránulos de Weibel-Palade se observan mediante microscopía electrónica.
<b>Organism</b>	Macaco Rhesus
<b>Tissue</b>	Coroides, retina
<b>Disease</b>	Normal retinal choroidal endothelium (fetal; non-tumorigenic)
<b>Metastatic site</b>	Not applicable (normal fetal retinal choroidal endothelial cell line)
<b>Applications</b>	Ocular angiogenesis research; retinal and choroidal vascularization; anti-VEGF therapy evaluation (bevacizumab, ranibizumab); AMD and diabetic retinopathy modeling; tube formation assays; vascular permeability; NHP primate retinal endothelial model

**Características**

<b>Age</b>	Feto
<b>Gender</b>	Sex unspecified
<b>Ethnicity</b>	Not applicable (non-human primate cell line; Macaca mulatta)
<b>Morphology</b>	Epitelial
<b>Cell type</b>	Endothelial cells
<b>Growth properties</b>	Adherente

**Datos reglamentarios**

<b>Citation</b>	RF/6A (número de catálogo de Cytion 305150)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9544
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4552

**Células RF/6A | 305150**

**GMO Status** No genetic modification; wildtype rhesus macaque fetal retinal choroidal endothelial cell line

**Datos biomoleculares**

**Protein expression** Factor , Fibronectina

**Manejo de**

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (número de artículo de Cytion 820100a)

**Supplements** Suplementar el medio con un 10% de FBS y un 1% de NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** approx. 24 to 36 hours

**Subculturing** Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.

**Split ratio** 1:2 a 1:4

**Seeding density** 1 to  $2 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** de 2 a 3 veces por semana

**Post-Thaw Recovery** After thawing, plate the cells at  $5 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> and allow at least 24 hours for adherence before the first medium change. Do not allow cultures to reach full confluency as contact inhibition may reduce endothelial phenotype.

**Freeze medium** Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

## Células RF/6A | 305150

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a  $37^{\circ}\text{C}$  con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmósfera humidificada.

### Flask Coating

Ninguno

### Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

### Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

## Células RF/6A | 305150

### Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

## Control de calidad / Perfil genético / HLA

### Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.