

## Cellules RF/6A | 305150

## Informations générales

## Description

RF/6A est une lignée cellulaire d'endothélium choroïdien rétinien de macaque rhésus (*Macaca mulatta*), établie à partir de tissus fœtaux de la choroïde et de la rétine. Cette lignée est répertoriée dans Cellosaurus sous la référence CVCL\_4552 et se développe sous forme de monocouche adhérente présentant une morphologie de type épithélial. Les cellules RF/6A conservent des caractéristiques endothéliales essentielles, notamment l'expression du facteur VIII (facteur von Willebrand), de la fibronectine et des granules de Weibel-Palade détectables par microscopie électronique — ces derniers confirmant leur identité endothéliale. Cette lignée a été initialement établie pour des études sur la vascularisation rétinienne et choroïdienne et a été largement adoptée comme modèle endothélial de primate pour la recherche sur l'angiogenèse oculaire.

La lignée RF/6A est utile dans la recherche sur l'angiogenèse oculaire, les études sur la vascularisation rétinienne et choroïdienne, l'évaluation des agents anti-angiogéniques (inhibiteurs du VEGF, bévacizumab, ranibizumab), la modélisation de la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA), la biologie de la rétinopathie diabétique et l'évaluation de la perméabilité vasculaire dans le microenvironnement oculaire. Son origine de primate non humain (NHP) rend la lignée RF/6A plus proche de la biologie vasculaire rétinienne humaine que les modèles endothéliaux de rongeurs, en particulier pour les études portant sur les réponses spécifiques aux isoformes du VEGF chez les primates et la pharmacologie oculaire. Cette lignée est couramment utilisée dans les tests de formation de tubes, les tests de migration et les expériences de stimulation par le VEGF.

La lignée RF/6A est cultivée en culture adhérente dans du milieu EMEM complété par 10 % de sérum fœtal bovin (FBS) et 1 % de NEAA, à 37 °C dans une atmosphère humidifiée contenant 5 % de CO<sub>2</sub>. Les cellules sont repiquées à l'aide d'Accutase lorsqu'elles atteignent une confluence de 70 à 80 % afin d'éviter l'inhibition par contact et la perte du phénotype endothélial. Rapport de division de 1:3 à 1:5, densité d'ensemencement de 1 à 2 × 10<sup>4</sup> cellules/cm<sup>2</sup>. Renouvellement du milieu 2 à 3 fois par semaine.

## Organism

Macaque rhésus

## Tissue

Choroïde, rétine

## Disease

Endothélium choroïdien rétinien normal (fœtal ; non tumorigène)

## Metastatic site

Sans objet (lignée cellulaire normale de cellules endothéliales choroïdiennes fœtales)

## Applications

Recherche sur l'angiogenèse oculaire ; vascularisation rétinienne et choroïdienne ; évaluation des traitements anti-VEGF (bévacizumab, ranibizumab) ; modélisation de la DMLA et de la rétinopathie diabétique ; tests de formation de tubes ; perméabilité vasculaire ; modèle endothélial rétinien chez les primates non humains

## Caractéristiques

## Age

Fœtus

## Gender

Sexe non spécifié

## Cellules RF/6A | 305150

**Ethnicity** Sans objet (lignée cellulaire de primate non humain ; Macaca mulatta)

**Morphology** De type épithélial

**Cell type** Cellules endothéliales

**Growth properties** Adhérent

## Données réglementaires

**Citation** RF/6A (numéro de catalogue Cytion 305150)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9544

**CellosaurusAccession** CVCL\_4552

**GMO Status** Sans modification génétique ; lignée cellulaire d'endothélium choroïdien rétinien foetal de macaque rhésus de type sauvage

## Données biomoléculaires

**Protein expression** Facteur , Fibronectine

## Manipulation

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w : 2 mM L-Glutamine, w : 2.2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w : EBSS (numéro d'article Cytion 820100a)

**Supplements** Compléter le milieu avec 10 % de FBS et 1 % de NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** environ 24 à 36 heures

**Cellules RF/6A | 305150**

**Subculturing** Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

**Split ratio** 1 à 5

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

**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine

**Post-Thaw Recovery** Après décongélation, ensemercer les cellules à une densité de  $5 \times 10^4$  cellules/cm<sup>2</sup> et laisser au moins 24 heures pour l'adhérence avant le premier changement de milieu. Ne pas laisser les cultures atteindre une confluence totale, car l'inhibition par contact pourrait altérer le phénotype endothélial.

**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

## Cellules RF/6A | 305150

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, atmosphère humidifiée.

### Flask Coating

Aucun

### Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

## Cellules RF/6A | 305150

### Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

### Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

## Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

### Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.