

## Sel RF / 6A | 305150

## Informasi umum

## Description

RF/6A adalah garis sel endotel koroid retina kera rhesus (*Macaca mulatta*) yang diisolasi dari jaringan koroid dan retina janin. Garis sel ini terdaftar di Cellosaurus dengan kode CVCL\_4552 dan tumbuh sebagai lapisan tunggal yang melekat dengan morfologi mirip epitel. Sel RF/6A mempertahankan karakteristik endotel utama, termasuk ekspresi Faktor VIII (faktor von Willebrand), fibronektin, dan granula Weibel-Palade yang dapat dideteksi melalui mikroskop elektron — yang terakhir ini menegaskan identitas endotelnya. Garis sel ini awalnya dikembangkan untuk studi vaskularisasi retina dan koroid, dan telah secara luas digunakan sebagai model endotel primata untuk penelitian angiogenesis okular.

RF/6A dapat diterapkan dalam penelitian angiogenesis okular, studi vaskularisasi retina dan koroid, evaluasi agen anti-angiogenik (inhibitor VEGF, bevacizumab, ranibizumab), pemodelan degenerasi makula terkait usia (AMD), biologi retinopati diabetik, serta penilaian permeabilitas vaskular dalam lingkungan mikro okular. Asal usulnya dari primata non-manusia (NHP) membuat RF/6A lebih mendekati biologi vaskular retina manusia dibandingkan model endotel tikus, terutama untuk studi yang melibatkan respons isoform VEGF spesifik primata dan farmakologi okular. Garis sel ini umumnya digunakan dalam uji pembentukan tabung, uji migrasi, dan eksperimen stimulasi VEGF.

RF/6A dibudidayakan sebagai kultur adheren dalam medium EMEM yang ditambahkan 10% FBS dan 1% NEAA pada suhu 37°C dalam atmosfer 5% CO<sub>2</sub> yang dilembapkan. Sel-sel disubkultur dengan Accutase pada tingkat konfluensi 70–80% untuk mencegah penghambatan kontak dan hilangnya fenotipe endotel. Rasio pemisahan 1:3 hingga 1:5, kepadatan penyesuaian 1–2 × 10<sup>4</sup> sel/cm<sup>2</sup>. Media diganti 2–3 kali per minggu.

## Organism

Rhesus kera

## Tissue

Koroid, retina

## Disease

Endotel koroid retina normal (janin; tidak bersifat tumorigenik)

## Metastatic site

Tidak berlaku (garis sel endotel koroid retina janin normal)

## Applications

Penelitian angiogenesis okular; vaskularisasi retina dan koroid; evaluasi terapi anti-VEGF (bevacizumab, ranibizumab); pemodelan AMD dan retinopati diabetik; uji pembentukan tabung; permeabilitas vaskular; model endotel retina primata NHP

## Karakteristik

## Age

Janin

## Gender

Jenis kelamin tidak ditentukan

## Ethnicity

Tidak berlaku (garis sel primata non-manusia; *Macaca mulatta*)

## Morphology

Seperti epitel

## Sel RF / 6A | 305150

<b>Cell type</b>	Sel endotel
------------------	-------------

<b>Growth properties</b>	Patuh
--------------------------	-------

## Data Peraturan

<b>Citation</b>	RF/6A (Nomor katalog Cytion 305150)
-----------------	-------------------------------------

<b>Biosafety level</b>	1
------------------------	---

<b>NCBI_TaxID</b>	9544
-------------------	------

<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4552
-----------------------------	-----------

<b>GMO Status</b>	Tanpa modifikasi genetik; garis sel endotel koroid retina janin kera rhesus tipe liar
-------------------	---

## Data Biomolekuler

<b>Protein expression</b>	Faktor , Fibronektin
---------------------------	----------------------

## Penanganan

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (nomor artikel Cytion 820100a)
-----------------------	---

<b>Supplements</b>	Lengkapi media dengan 10% FBS dan 1% NEAA
--------------------	---

<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
-----------------------------	----------

<b>Doubling time</b>	sekitar 24 hingga 36 jam
----------------------	--------------------------

<b>Subculturing</b>	Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.
---------------------	---

<b>Split ratio</b>	1 sampai 5
--------------------	------------

## Sel RF / 6A | 305150

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

**Fluid renewal** 2 hingga 3 kali per minggu

**Post-Thaw Recovery** Setelah dicairkan, tanam sel pada kepadatan  $5 \times 10^4$  sel/cm<sup>2</sup> dan biarkan setidaknya selama 24 jam agar sel menempel sebelum penggantian medium pertama. Jangan biarkan kultur mencapai konfluensi penuh karena penghambatan kontak dapat mengurangi fenotipe endotel.

**Freeze medium** Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah  $-150^{\circ}\text{C}$  untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu  $37^{\circ}\text{C}$  dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada  $300 \times g$  selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

**Incubation Atmosphere**  $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfer yang dilembapkan.

**Sel RF / 6A | 305150**

**Flask Coating**      Tidak ada

**Freezing Procedure**

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

**Shipping Conditions**

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

**Storage Conditions**

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

**Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA**

**Sterility**

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.