

Celle RF/6A | 305150

Informazioni generali

Description

RF/6A è una linea cellulare endoteliale coroidale retinica del macaco rhesus (*Macaca mulatta*), ottenuta da tessuto fetale della coroide e della retina. La linea è registrata su Cellosaurus con il codice CVCL_4552 e cresce sotto forma di monostrato aderente con morfologia di tipo epiteliale. Le cellule RF/6A conservano caratteristiche endoteliali fondamentali, tra cui l'espressione del Fattore VIII (fattore di von Willebrand), della fibronectina e dei granuli di Weibel-Palade rilevabili al microscopio elettronico — questi ultimi confermano la loro identità endoteliale. La linea è stata originariamente ottenuta per studi sulla vascolarizzazione retinica e coroidale ed è stata ampiamente adottata come modello endoteliale dei primati per la ricerca sull'angiogenesi oculare.

RF/6A è applicabile nella ricerca sull'angiogenesi oculare, negli studi sulla vascolarizzazione retinica e coroidale, nella valutazione di agenti antiangiogenici (inibitori del VEGF, bevacizumab, ranibizumab), modellizzazione della degenerazione maculare senile (AMD), biologia della retinopatia diabetica e valutazione della permeabilità vascolare nel microambiente oculare. L'origine da primati non umani (NHP) rende la linea RF/6A più vicina alla biologia vascolare retinica umana rispetto ai modelli endoteliali dei roditori, in particolare per gli studi che coinvolgono le risposte delle isoforme del VEGF specifiche dei primati e la farmacologia oculare. La linea è comunemente utilizzata in saggi di formazione di tubi, saggi di migrazione ed esperimenti di stimolazione con VEGF.

RF/6A viene mantenuta in coltura aderente in EMEM integrato con il 10% di FBS e l'1% di NEAA a 37 °C in un'atmosfera umidificata con il 5% di CO₂. Le cellule vengono sottoposte a subcoltura con Accutase al raggiungimento di una confluenza del 70–80% per prevenire l'inibizione da contatto e la perdita del fenotipo endoteliale. Rapporto di divisione 1:3 – 1:5, densità di semina 1–2 × 10⁴ cellule/cm². Il terreno di coltura va rinnovato 2–3 volte alla settimana.

Organism

Macaco Rhesus

Tissue

Coroide, retina

Disease

Endotelio coroidale retinico normale (fetale; non tumorigenico)

Metastatic site

Non applicabile (linea cellulare endoteliale coroidale retinica fetale normale)

Applications

Ricerca sull'angiogenesi oculare; vascolarizzazione retinica e coroidale; valutazione della terapia anti-VEGF (bevacizumab, ranibizumab); modellizzazione dell'AMD e della retinopatia diabetica; test di formazione di tubuli; permeabilità vascolare; modello endoteliale retinico nei primati NHP

Caratteristiche

Age

Feto

Gender

Sesso non specificato

Celle RF/6A | 305150

Ethnicity	Non applicabile (linea cellulare di primati non umani; Macaca mulatta)
Morphology	Simile all'epitelio
Cell type	Cellule endoteliali
Growth properties	Aderente

Dati normativi

Citation	RF/6A (numero di catalogo Cytion 305150)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_4552
GMO Status	Senza modificazioni genetiche; linea cellulare endoteliale coroidale retinica fetale di macaco rhesus di tipo selvatico

Dati biomolecolari

Protein expression	Fattore , Fibronectina
---------------------------	------------------------

Manipolazione

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (articolo Cytion numero 820100a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	circa da 24 a 36 ore

Celle RF/6A | 305150

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Split ratio Da 1 a 5

Seeding density da 1 a 2×10^4 cellule/cm²

Fluid renewal da 2 a 3 volte alla settimana

Post-Thaw Recovery Dopo lo scongelamento, seminare le cellule a una densità di 5×10^4 cellule/cm² e attendere almeno 24 ore affinché aderiscano prima del primo cambio di terreno di coltura. Evitare che le colture raggiungano la piena confluenza, poiché l'inibizione da contatto potrebbe ridurre il fenotipo endoteliale.

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Celle RF/6A | 305150

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Celle RF/6A | 305150

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.