

## RF/6A Cellen | 305150

## Algemene informatie

## Description

RF/6A is een endotheelcellijn van het choroïde en het netvlies van de rhesusmakak (*Macaca mulatta*), die is geïsoleerd uit foetaal choroïde- en netvliesweefsel. De lijn is in Cellosaurus geregistreerd onder de code CVCL\_4552 en groeit als een hechtende monolaag met een epitheelachtige morfologie. RF/6A-cellen behouden belangrijke endotheliale kenmerken, waaronder de expressie van factor VIII (von Willebrand-factor), fibronectine en Weibel-Palade-granulen die met elektronenmicroscopie aantoonbaar zijn – waarbij deze laatste hun endotheliale identiteit bevestigen. De lijn werd oorspronkelijk opgezet voor onderzoek naar de vascularisatie van het netvlies en het choroïde en wordt op grote schaal gebruikt als endotheelmodel van primaten voor onderzoek naar oculaire angiogenese.

RF/6A is toepasbaar in onderzoek naar oculaire angiogenese, studies naar retinale en choroïdale vascularisatie, de evaluatie van anti-angiogene middelen (VEGF-remmers, bevacizumab, ranibizumab), het modelleren van leeftijdsgebonden maculaire degeneratie (AMD), de biologie van diabetische retinopathie en de beoordeling van vasculaire permeabiliteit in de oculaire micro-omgeving. Door de afkomst van niet-menselijke primaten (NHP) sluit RF/6A beter aan bij de biologie van de menselijke retinale vasculatuur dan endotheelmodellen van knaagdieren, met name voor onderzoeken naar primatenspecifieke reacties op VEGF-isovormen en oculaire farmacologie. De lijn wordt veelvuldig gebruikt in buisvormingstests, migratietests en VEGF-stimulatie-experimenten.

RF/6A wordt gekweekt als een hechtende cultuur in EMEM, aangevuld met 10% FBS en 1% NEAA, bij 37 °C in een bevochtigde atmosfeer met 5% CO<sub>2</sub>. Cellen worden bij een confluentie van 70–80% gesubcultiveerd met Accutase om contactremming en verlies van het endotheliale fenotype te voorkomen. Splitsingsverhouding 1:3 tot 1:5, zaaidichtheid 1–2 × 10<sup>4</sup> cellen/cm<sup>2</sup>. Het medium wordt 2–3 keer per week ververs.

## Organism

Rhesus makaak

## Tissue

Choroïd, netvlies

## Disease

Normaal endotheel van het choroïde van het netvlies (foetaal; niet-tumorogene)

## Metastatic site

Niet van toepassing (normale cellijn van endotheelcellen van het choroïde van het foetale netvlies)

## Applications

Onderzoek naar oculaire angiogenese; vascularisatie van het netvlies en het vaatvlies; evaluatie van anti-VEGF-therapie (bevacizumab, ranibizumab); modellering van AMD en diabetische retinopathie; buisvormingstests; vasculaire permeabiliteit; netvliesendotheelmodel van NHP-primaten

## Kenmerken

## Age

Foetus

## Gender

Geslacht onbepaald

## Ethnicity

Niet van toepassing (cellijn van een niet-menselijke primaat; *Macaca mulatta*)

## RF/6A Cellen | 305150

**Morphology** Epitheelachtig

**Cell type** Endotheelcellen

**Growth properties** Aanhangend

## Regelgevende gegevens

**Citation** RF/6A (Cytion catalogusnummer 305150)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9544

**CellosaurusAccession** CVCL\_4552

**GMO Status** Geen genetische modificatie; wildtype foetale choroïdale endotheelcellijn van de rhesusmakaken

## Biomoleculaire gegevens

**Protein expression** Factor , Fibronectine

## Omgaan met

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

**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS en 1% NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** ongeveer 24 tot 36 uur

**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

## RF/6A Cellen | 305150

**Split ratio** 1 tot en met 5

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

**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week

**Post-Thaw Recovery** Breng de cellen na het ontdooien uit op een celdichtheid van  $5 \times 10^4$  cellen/cm<sup>2</sup> en laat ze ten minste 24 uur hechten voordat u de eerste mediumverversing uitvoert. Laat de culturen niet volledig confluent worden, aangezien contactremming het endotheliale fenotype kan verminderen.

**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

### Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

## RF/6A Cellen | 305150

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5%<sub>CO<sub>2</sub></sub>, bevochtigde atmosfeer.

**Flask Coating** Geen

**Freezing Procedure** Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

**Shipping Conditions** Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

**Storage Conditions** Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

## Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

**Sterility** Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.