

RF/6A-celler | 305150

Generell informasjon

Description

RF/6A er en endotelcellelinje fra netthinnen og årehinnen hos rhesusmakak (*Macaca mulatta*), etablert fra fostervev fra årehinnen og netthinnen. Linjen er registrert i Cellosaurus som CVCL_4552 og vokser som et vedheftende monolag med epitelignende morfologi. RF/6A-cellene beholder viktige endotelkarakteristika, inkludert uttrykk av faktor VIII (von Willebrand-faktor), fibronektin og Weibel-Palade-granuler som kan påvises ved hjelp av elektronmikroskopi – det siste bekrefter deres endotelidentitet. Linjen ble opprinnelig etablert for studier av vaskularisering i netthinnen og koroiden og har blitt mye brukt som en primat-endotelmodell for forskning på okulær angiogenese.

RF/6A kan brukes i forskning på okulær angiogenese, studier av vaskularisering i netthinnen og årehinnen, evaluering av antiangiogene midler (VEGF-hemmere, bevacizumab, ranibizumab), modellering av aldersrelatert makuladegenerasjon (AMD), biologi ved diabetisk retinopati og vurdering av vaskulær permeabilitet i det okulære mikromiljøet. Opprinnelsen fra ikke-menneskelige primater (NHP) gjør at RF/6A ligger nærmere den menneskelige netthinnevaskulære biologien enn endotelmodeller fra gnagere, særlig for studier som omfatter primatspesifikke VEGF-isoformresponser og okulær farmakologi. Cellelinjen brukes ofte i rørdannelsesassayer, migrasjonsassayer og VEGF-stimuleringseksperimenter.

RF/6A oppbevares som en vedheftende kultur i EMEM tilsatt 10 % FBS og 1 % NEAA ved 37 °C i en fuktet atmosfære med 5 % CO₂. Cellene subkultiveres med Accutase ved 70–80 % konfluens for å forhindre kontaktinhibisjon og tap av endotelfenotype. Delingsforhold 1:3 til 1:5, utsåingstetthet 1–2 × 10⁴ celler/cm². Mediet skiftes 2–3 ganger per uke.

Organism

Rhesusmakak

Tissue

Årehinne, netthinne

Disease

Normalt endotel i netthinnens koroid (foster; ikke-tumorbyggende)

Metastatic site

Ikke relevant (normal cellelinje fra endotelceller i netthinnens koroid hos foster)

Applications

Forskning på okulær angiogenese; vaskularisering av netthinnen og årehinnen; evaluering av anti-VEGF-behandling (bevacizumab, ranibizumab); modellering av AMD og diabetisk retinopati; rørdannelsesforsøk; vaskulær permeabilitet; endotelmodell fra netthinnen hos NHP-primater

Kjennetegn

Age

Foster

Gender

Kjønn uspesifisert

Ethnicity

Ikke relevant (cellelinje fra ikke-menneskelig primat; *Macaca mulatta*)

Morphology

Epitel-lignende

RF/6A-celler | 305150

Cell type Endotelceller**Growth properties** Vedhengende**Regulatoriske data****Citation** RF/6A (Cytion-katalognummer 305150)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9544**CellosaurusAccession** CVCL_4552**GMO Status** Ingen genetisk modifisering; villtype-cellelinje fra endotelceller i netthinnens koroid hos foster av rhesusmakak**Biomolekylære data****Protein expression** Faktor , fibronektin**Håndtering****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO₃, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** ca. 24 til 36 timer**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

RF/6A-celler | 305150

Split ratio 1 til 5

Seeding density 1 til 2×10^4 celler/cm²

Fluid renewal 2 til 3 ganger per uke

Post-Thaw Recovery Etter opptining skal cellene sås med en tetthet på 5×10^4 celler/cm², og det må gis minst 24 timer til vedheft før det første medieskiftet. La ikke kulturene nå full konfluens, da kontakthinhibisjon kan redusere endotelfenotypen.

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

RF/6A-celler | 305150

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, befuktet atmosfære.

Flask Coating Ingen

Freezing Procedure Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.