

## Celule RF/6A | 305150

## Informații generale

## Description

RF/6A este o linie celulară de endoteliu coroidal retinian de la maimuța rhesus (*Macaca mulatta*), obținută din țesut coroidal și retinian fetal. Linia este înregistrată în Cellosaurus sub denumirea CVCL\_4552 și se dezvoltă sub forma unui monostrat aderent, cu morfologie de tip epitelial. Celulele RF/6A păstrează caracteristici endoteliale cheie, inclusiv expresia factorului VIII (factorul von Willebrand), a fibronectinei și a granulelor Weibel-Palade detectabile prin microscopie electronică — acestea din urmă confirmând identitatea lor endotelială. Linia a fost inițial creată pentru studii privind vascularizarea retinei și a coroidei și a fost adoptată pe scară largă ca model endotelial de primate pentru cercetarea angiogenezei oculare.

RF/6A este aplicabilă în cercetarea angiogenezei oculare, în studiile privind vascularizarea retinei și a coroidei, în evaluarea agenților antiangiogenici (inhibitori ai VEGF, bevacizumab, ranibizumab), modelarea degenerescentei maculare legate de vârstă (AMD), biologia retinopatiei diabetice și evaluarea permeabilității vasculare în micromediul ocular. Originea din primate neumane (NHP) face ca RF/6A să fie mai apropiată de biologia vasculară a retinei umane decât modelele endoteliale de rozătoare, în special pentru studiile care implică răspunsurile izoformelor VEGF specifice primatelor și farmacologia oculară. Linia este utilizată în mod obișnuit în testele de formare a tuburilor, testele de migrație și experimentele de stimulare cu VEGF.

RF/6A este menținută ca cultură aderentă în EMEM suplimentat cu 10% FBS și 1% NEAA la 37 °C într-o atmosferă umidificată cu 5% CO<sub>2</sub>. Celulele sunt subcultivate cu Accutase la o confluență de 70–80% pentru a preveni inhibarea prin contact și pierderea fenotipului endotelial. Raportul de divizare este de 1:3 până la 1:5, iar densitatea de însămânțare este de  $1-2 \times 10^4$  celule/cm<sup>2</sup>. Mediul de cultură se înnoiește de 2–3 ori pe săptămână.

## Organism

Macac Rhesus

## Tissue

Coroida, retina

## Disease

Endoteliul coroidal retinian normal (fetal; netumorigenic)

## Metastatic site

Nu se aplică (linie celulară normală de celule endoteliale coroidale retiniene fetale)

## Applications

Cercetări privind angiogeneza oculară; vascularizarea retinei și a coroidei; evaluarea terapiei anti-VEGF (bevacizumab, ranibizumab); modelarea AMD și a retinopatiei diabetice; teste de formare a tuburilor; permeabilitatea vasculară; modelul endotelial retinian la primate NHP

## Caracteristici

## Age

Fetusul

## Gender

Sex nespecificat

## Ethnicity

Nu se aplică (linie celulară de primate neumane; *Macaca mulatta*)

## Morphology

De tip epitelial

## Celule RF/6A | 305150

**Cell type** Celule endoteliale**Growth properties** Aderent

## Date de reglementare

**Citation** RF/6A (număr de catalog Cytion 305150)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9544**CellosaurusAccession** CVCL\_4552**GMO Status** Fără modificări genetice; linie celulară de endoteliu coroidal retinian fetal de maimuță rhesus de tip sălbatic

## Date biomoleculare

**Protein expression** Factorul , Fibronectina

## Manipulare

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamină, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (număr articol Cytion 820100a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS și 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** aproximativ 24–36 de ore**Subculturing** Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.

**Celule RF/6A | 305150****Split ratio** de la 1 la 5**Seeding density** 1 până la  $2 \times 10^4$  celule/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** de 2 până la 3 ori pe săptămână**Post-Thaw Recovery** După decongelare, așezați celulele pe plăci la o densitate de  $5 \times 10^4$  celule/cm<sup>2</sup> și lăsați-le să se adere timp de cel puțin 24 de ore înainte de prima schimbare a mediului de cultură. Nu lăsați culturile să atingă confluența completă, deoarece inhibiția prin contact poate reduce fenotipul endotelial.**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.**Thawing and Culturing Cells**

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

## Celule RF/6A | 305150

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5%<sub>CO2</sub>, atmosferă umidificată.

**Flask Coating** Niciuna

**Freezing Procedure** Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

**Shipping Conditions** Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

**Storage Conditions** Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

## Controlul calității / Profil genetic / HLA

**Sterility** Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.