

RF/6A-celler | 305150

Allmän information

Description

RF/6A är en cellinje av endotelceller från näthinnans koroid hos rhesusmakaken (*Macaca mulatta*), som har etablerats från fostervävnad från koroid och näthinna. Cellinjen är registrerad i Cellosaurus under beteckningen CVCL_4552 och växer som ett vidhäftande monolager med epitelliknande morfologi. RF/6A-cellerna behåller viktiga endotelegenskaper, däribland uttryck av faktor VIII (von Willebrand-faktor), fibronektin och Weibel-Palade-granuler som kan påvisas med elektronmikroskopi – det sistnämnda bekräftar deras endotelidentitet. Cellinjen etablerades ursprungligen för studier av vaskularisering i näthinnan och koroiden och har i stor utsträckning använts som en endotelmodell från primater för forskning om okulär angiogenes.

RF/6A är användbar inom forskning om okulär angiogenes, studier av vaskularisering i näthinnan och åderhinnan, utvärdering av antiangiogena medel (VEGF-hämmare, bevacizumab, ranibizumab), modellering av åldersrelaterad makuladegeneration (AMD), biologin bakom diabetisk retinopati samt bedömning av vaskulär permeabilitet i ögats mikromiljö. Eftersom RF/6A härstammar från icke-mänskliga primater (NHP) ligger den närmare den mänskliga näthinnans vaskulära biologi än endotelmodeller från gnagare, särskilt för studier som rör primatspecifika VEGF-isoformresponser och okulär farmakologi. Cellinjen används ofta i rörbildningsanalyser, migrationsanalyser och VEGF-stimuleringsförsök.

RF/6A odlas som en vidhäftande kultur i EMEM kompletterat med 10 % FBS och 1 % NEAA vid 37 °C i en fuktad atmosfär med 5 % CO₂. Cellerna subkultiveras med Accutase vid 70–80 % konfluens för att förhindra kontaktinhibering och förlust av endotelfenotypen. Delningsförhållande 1:3 till 1:5, utsädesdensitet 1–2 × 10⁴ celler/cm². Mediet byts 2–3 gånger per vecka.

Organism

Rhesusmakak

Tissue

Åderhålan, näthinnan

Disease

Normalt endotel i näthinnans koroid (fostervävnad; icke-tumörbildande)

Metastatic site

Ej tillämpligt (normal cellinje från fostrets näthinnans koroidala endotel)

Applications

Forskning om okulär angiogenes; vaskularisering av näthinnan och åderhinnan; utvärdering av anti-VEGF-behandling (bevacizumab, ranibizumab); modellering av åldersrelaterad makuladegeneration (AMD) och diabetesretinopati; rörbildningsförsök; vaskulär permeabilitet; näthinneendotelmodell från NHP-primater

Egenskaper

Age

Foster

Gender

Kön ospecificerat

Ethnicity

Ej tillämpligt (cellinje från icke-mänsklig primat; *Macaca mulatta*)

Morphology

Epitelliknande

RF/6A-celler | 305150

Cell type Endoteliala celler**Growth properties** Följsam**Lagstadgade uppgifter****Citation** RF/6A (Cytion katalognummer 305150)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9544**CellosaurusAccession** CVCL_4552**GMO Status** Ingen genetisk modifiering; vildtyp av endotelcellinje från fosterets näthinnans koroid hos rhesusmakak**Biomolekylära data****Protein expression** Faktor , fibronektin**Hantering****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS och 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** ca 24 till 36 timmar**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.**Split ratio** 1 till 5

RF/6A-celler | 305150

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

Fluid renewal 2 till 3 gånger per vecka

Post-Thaw Recovery Efter upptining ska cellerna odlas ut med en täthet på 5×10^4 celler/cm² och få vidhäfta i minst 24 timmar innan det första medielbytet. Låt inte odlingarna nå full konfluens, eftersom kontakthibering kan minska den endoteliala fenotypen.

Freeze medium Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryounducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, befuktad atmosfär.

RF/6A-celler | 305150

Flask Coating Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.