

## Елементи RF/6A | 305150

## Загальна інформація

## Description

RF/6A — це лінія клітин ендотелію хоріоїдеї сітківки макаки-резуса (*Macaca mulatta*), отримана з тканин хоріоїдеї та сітківки плода. Лінія зареєстрована в базі даних Cellosaurus під номером CVCL\_4552 і росте у вигляді адгезивного моношару з епітеліоподібною морфологією. Клітини RF/6A зберігають ключові характеристики ендотелію, зокрема експресію фактора VIII (фактора фон Віллебранда), фібронектину та гранул Вайбеля-Паладе, виявлених за допомогою електронної мікроскопії — останнє підтверджує їхню ендотеліальну природу. Ця лінія була спочатку створена для досліджень васкуляризації сітківки та хоріоїдеї і широко використовується як модель ендотелію приматів для досліджень очної ангиогенезу.

RF/6A застосовується в дослідженнях очного ангиогенезу, вивченні васкуляризації сітківки та хоріоїдеї, оцінці антиангіогенних засобів (інгібіторів VEGF, бевацизумабу, ранібізумабу), моделювання вікової макулярної дегенерації (ВМД), біології діабетичної ретинопатії та оцінки судинної проникності в мікросередовищі ока. Походження від нелюдських приматів (NHP) робить RF/6A ближчою до біології судин сітківки людини, ніж ендотеліальні моделі гризунів, особливо для досліджень, що стосуються специфічних для приматів реакцій на ізоформи VEGF та очної фармакології. Цю лінію зазвичай використовують у тестах на утворення трубочок, тестах на міграцію та експериментах зі стимуляцією VEGF.

RF/6A культивують у вигляді адгезивної культури в середовищі EMEM, доповненому 10 % FBS та 1 % NEAA, при температурі 37 °C у зволоженій атмосфері з 5 % CO<sub>2</sub>. Клітини субкультують за допомогою Accutase при 70–80 % конфлюентності, щоб запобігти контактній інгібіції та втраті ендотеліального фенотипу. Коефіцієнт поділу становить 1:3–1:5, щільність висівання —  $1-2 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup>. Середовище оновлюють 2–3 рази на тиждень.

## Organism

Макака-резус

## Tissue

Судинна оболонка, сітківка

## Disease

Нормальний ендотелій хоріоїдеї сітківки (фетальний; непухлинний)

## Metastatic site

Не застосовується (нормальна лінія клітин ендотелію хоріоїдеї сітківки плода)

## Applications

Дослідження очного ангиогенезу; васкуляризація сітківки та хоріоїдеї; оцінка терапії анти-VEGF (бевацизумаб, ранібізумаб); моделювання вікової макулярної дегенерації (ВМД) та діабетичної ретинопатії; аналізи утворення трубочок; проникність судин; модель ендотелію сітківки приматів NHP

## Характеристики

## Age

Плід

## Gender

Стать не визначена

## Ethnicity

Не застосовується (клітинна лінія приматів, що не належать до роду *Homo*; *Macaca mulatta*)

## Елементи RF/6A | 305150

**Morphology** Епітеліальноподібні

**Cell type** Ендотеліальні клітини

**Growth properties** Адепт

## Нормативні дані

**Citation** RF/6A (номер за каталогом Cytion 305150)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9544

**CellosaurusAccession** CVCL\_4552

**GMO Status** Без генетичної модифікації; лінія клітин ендотелію хоріоїдеї сітківки плода макаки-резуса дикого типу

## Біомолекулярні дані

**Protein expression** Фактор  $\alpha_2$ I<sub>2</sub>167, фібронектин

## Обробка

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-глутамін, w: 2,2 г/л NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (цит. номер 820100a)

**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS та 1% NEAA

**Dissociation Reagent** Аккутаза

**Doubling time** приблизно від 24 до 36 годин

## Елементи RF/6A | 305150

**Subculturing** Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини ацкутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

**Split ratio** від 1 до 5

**Seeding density** від 1 до  $2 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень

**Post-Thaw Recovery** Після розморожування висійте клітини з щільністю  $5 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup> і дайте їм прикріпитися протягом щонайменше 24 годин перед першою заміною середовища. Не допускайте повного злиття клітинних культур, оскільки інгібування контакту може призвести до зниження ендотеліального фенотипу.

**Freeze medium** Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

## Елементи RF/6A | 305150

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

**Flask Coating**

Ні

**Freezing  
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно  $-78^{\circ}\text{C}$  під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

## Елементи RF/6A | 305150

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно  $-78^{\circ}\text{C}$  під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від  $-150$  до  $-196^{\circ}\text{C}$ . Зберігання при  $-80^{\circ}\text{C}$  допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.