Product sheet

Celdas RF/6A | 305150

Información general

Description	RF/6A es una línea celular de endotelio coroideo retiniano de macaco rhesus (Macaca mulatta) obtenida a partir de tejido fetal de la coroides y la retina. La línea crece como una monocapa adherente con morfología similar a la epitelial. Las células RF/6A conservan características endoteliales clave, entre ellas la expresión del factor VIII (factor von Willebrand), la fibronectina y los gránulos de Weibel-Palade, detectables mediante microscopía electrónica; estos últimos confirman su identidad endotelial. La línea se estableció originalmente para estudios de la vascularización retiniana y coroidea, y se ha adoptado ampliamente como modelo endotelial de primates para la investigación de la angiogénesis ocular. La línea RF/6A es aplicable en la investigación de la angiogénesis ocular, los estudios de la vascularización retiniana y coroidea, la evaluación de agentes antiangiogénicos (inhibidores del VEGF, bevacizumab, ranibizumab), la modelación de la degeneración macular relacionada con la edad (DMAE), la biología de la retinopatía diabética y la evaluación de la permeabilidad vascular en el microambiente ocular. Su origen en primates no humanos (NHP) hace que la línea RF/6A sea más cercana a la biología vascular de la retina humana que los modelos endoteliales de roedores, particularmente para estudios que involucran respuestas a isoformas de VEGF específicas de primates y farmacología ocular. Esta línea se utiliza comúnmente en ensayos de formación de tubos, ensayos de migración y experimentos de estimulación con VEGF.
Organism	Macaco rhesus
Tissue	Coroides, retina
Disease	Endotelio coroideo retiniano normal (fetal; no tumorigénico)
Metastatic site	No aplicable (línea celular endotelial coroidea retiniana fetal normal)
Applications	Investigación sobre la angiogénesis ocular; vascularización retiniana y coroidea; evaluación de la terapia anti-VEGF (bevacizumab, ranibizumab); modelización de la DMAE y la retinopatía diabética; ensayos de formación de tubos; permeabilidad vascular; modelo endotelial retiniano en primates NHP

Características

Age	Feto
Gender	Sexo no especificado
Ethnicity	No aplicable (línea celular de primates no humanos; Macaca mulatta)
Morphology	De tipo epitelial
Cell type	Células endoteliales

Celdas RF/6A | 305150

Growth properties	Adherente

Datos normativos

Citation	RF/6A (número de catálogo de Cytion 305150)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_4552
GMO Status	Sin modificación genética; línea celular de endotelio coroideo retiniano fetal de macaco rhesus de tipo silvestre

Datos biomoleculares

Protein expression	Factor VIII, fibronectina

Manejo

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), con: 2 mM de L-glutamina, con: 2,2 g/L de $NaHCO_3$, con: EBSS (número de artículo de Cytion 820100a)
Supplements	Añade al medio un 10 % de FBS y un 1 % de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	aprox. de 24 a 36 horas
Subculturing	Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspendarlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfiéralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.
Split ratio	Del 1 al 5

Celdas RF/6A | 305150

Seeding density	De 1 a 2 × 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	De 2 a 3 veces por semana
Post-Thaw Recovery	Después de descongelarlas, siembre las células a una densidad de 5 × 10^4 células/cm^2 y deje que se adhieran durante al menos 24 horas antes del primer cambio de medio. No permita que los cultivos alcancen la confluencia total, ya que la inhibición por contacto podría reducir el fenotipo endotelial.
Freeze medium	Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150 °C para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37 °C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrífuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiere todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmósfera humidificada.
Shipping Conditions	Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente −78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.
Storage Conditions	Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre −150 y −196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a −80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility	Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia. Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.