Product sheet

Cellules RF/6A | 305150

Renseignements généraux

Description	RF/6A est une lignée cellulaire d'endothélium choroïdien rétinien de macaque rhésus (Macaca mulatta) établie à partir de tissus fœtaux de la choroïde et de la rétine. Cette lignée se développe sous forme de monocouche adhérente présentant une morphologie de type épithélial. Les cellules RF/6A conservent des caractéristiques endothéliales clés, notamment l'expression du facteur VIII (facteur von Willebrand), de la fibronectine et des granules de Weibel-Palade détectables par microscopie électronique — ces derniers confirmant leur identité endothéliale. Cette lignée a été initialement établie pour des études sur la vascularisation rétinienne et choroïdienne et a été largement adoptée comme modèle endothélial de primate pour la recherche sur l'angiogenèse oculaire. La lignée RF/6A est utile dans la recherche sur l'angiogenèse oculaire, les études sur la vascularisation rétinienne et choroïdienne, l'évaluation des agents anti-angiogéniques (inhibiteurs du VEGF, bévacizumab, ranibizumab), la modélisation de la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA), la biologie de la rétinopathie diabétique et l'évaluation de la perméabilité vasculaire dans le microenvironnement oculaire. Son origine de primate non humain (PNH) rend la lignée RF/6A plus proche de la biologie vasculaire rétinienne humaine que les modèles endothéliaux de rongeurs, en particulier pour les études portant sur les réponses aux isoformes du VEGF spécifiques aux primates et sur la pharmacologie oculaire. Cette lignée est couramment utilisée dans les essais de formation de tubes, les essais de migration et les expériences de stimulation par le VEGF.
Organism	Macaque rhésus
Tissue	Choroïde, rétine
Disease	Endothélium choroïdien rétinien normal (fœtal; non tumorigène)
Metastatic site	Sans objet (lignée cellulaire normale de cellules endothéliales choroïdiennes fœtales)
Applications	Recherche sur l'angiogenèse oculaire; vascularisation rétinienne et choroïdienne; évaluation des traitements anti-VEGF (bévacizumab, ranibizumab); modélisation de la DMLA et de la rétinopathie diabétique; tests de formation de tubes; perméabilité vasculaire; modèle endothélial rétinien chez les primates non humains

Caractéristiques

Age	Fœtus
Gender	Sexe non précisé
Ethnicity	Sans objet (lignée cellulaire de primate non humain; Macaca mulatta)
Morphology	De type épithélial
Cell type	Cellules endothéliales

Cellules RF/6A | 305150

Growth properties	Adepte

Données réglementaires

Citation	RF/6A (numéro de catalogue Cytion 305150)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9544
CellosaurusAccession	CVCL_4552
GMO Status	Sans modification génétique; lignée cellulaire d'endothélium choroïdien rétinien fœtal de macaque rhésus de type sauvage

Données biomoléculaires

Protein expression	Facteur VIII, fibronectine

Manipulation

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), contenant : 2 mM de L-glutamine, 2,2 g/L de $NaHCO_3$, et EBSS (référence Cytion 820100a)
Supplements	Ajouter au milieu 10 % de FBS et 1 % de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	environ 24 à 36 heures
Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Split ratio	1 à 5

Cellules RF/6A | 305150

Seeding density	1 à 2 × 10^4 cellules/cm^2
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Post-Thaw Recovery	Après décongélation, ensemencer les cellules à raison de 5 × 10^4 cellules/cm^2 et laisser au moins 24 heures pour l'adhérence avant le premier changement de milieu. Ne pas laisser les cultures atteindre une confluence totale, car l'inhibition par contact pourrait réduire le phénotype endothélial.
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Cellules RF/6A | 305150

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.
Shipping Conditions	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence. Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.