Product sheet

Клетки RLE-6TN | 305350

Обща информация

Description	Клетъчната линия RLE-6TN е имортализирана алвеоларна епителна линия тип II на плъхове, получена от възрастни плъхове Fischer 344. RLE-6TN е създадена чрез спонтанна имортализация по време на опитите за въвеждане на гена SV40-T антиген в първични алвеоларни епителни клетки тип II. За разлика от своя аналог RLE-6T, който е бил положително трансфектиран с антиген SV40-T, клетките RLE-6TN не експресират гена на T-антигена. Независимо от това клетките RLE-6TN запазват критични морфологични и функционални характеристики, характерни за алвеоларните клетки тип II, включително експресия на цитокератин и наличие на съдържащи липиди ламелни инклузивни телца. Клетките RLE-6TN се използват широко като in vitro модел за изследване на биологията на белодробните епителни клетки, алвеоларната функция и отговорите на различни физиологични и патологични стимули. Те са особено подходящи за изучаване на регулацията и активността на Na-K-ATPase в алвеоларните епителни клетки. Na-K-ATPase е от съществено значение за поддържането на клетъчните йонни градиенти и транс-епителиалния йонен транспорт - процеси, които са от решаващо значение за изчистването на алвеоларната течност в белите дробове. В проучвания е доказано, че тиреоидният хормон (T3) стимулира активността на Na-K-ATPase в клетките RLE-6TN, като засилва транслокацията ѝ към плазмената мембрана, а не увеличава транскрипцията ѝ, което подчертава нов, бърз регулаторен механизъм. Клетките RLE-6TN демонстрират стабилен растеж с почти диплоиден кариотип и не са туморогенни при голи мишки. Те са отрицателни по отношение на активността на алкалната фосфатаза, но се оцветяват положително по отношение на цитокератините 8, 18 и 19, което потвърждава техния епителен произход. Клетките RLE-6TN могат да се поддържат дългосрочно в култура и служат като надеждна платформа за механистични изследвания на възстановяването на алвеоларния епител, метаболизма на сърфактанта и клетъчните реакции към белодробни увреждания, токсини и терапевтични агенти.
Organism	Плъх
Tissue	Бял дроб
Synonyms	Плъх Белодробен епител-6-T-антиген Отрицателен

Характеристики

Age	56 дни
Gender	Мъжки
Morphology	Епителиален
Growth properties	Придържащи се

Клетки RLE-6TN | 305350

Регулаторни данни

Citation	RLE-6TN (каталожен номер 305350 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_4693

Биомолекулярни данни

Antigen expression	Цитокератин 8; цитокератин 19
Tumorigenic	Не, Не не е туморогенен при голи мишки
Viruses	SV40
Karyotype	Съобщава се, че клетките остават близки до диплоидните и кариотипно стабилни от пасаж 19-70, като 50% или повече от клетките съдържат 42 хромозоми. При пасаж 37 се наблюдава транслокация между хромозоми 1 и 15, която води до тризомия на рамото q на хромозома 1.

Работа с

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO3 (номер на изделието на Cytion 820400a)
Supplements	Допълнете средата с 5% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Split ratio	Препоръчва се съотношение 1:5
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки RLE-6TN | 305350

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки RLE-6TN | 305350

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.