

Buňky RLE-6TN | 305350

Obecné informace

Description

Buněčná linie RLE-6TN je immortalizovaná linie alveolárních epitelálních buněk potkana typu II odvozená z dospělých potkanů Fischer 344. RLE-6TN vznikla spontánní immortalizací při pokusech o zavedení genu pro antigen SV40-T do primárních alveolárních epitelálních buněk typu II. Na rozdíl od svého protějšku RLE-6T, který byl pozitivně transfekován antigenem SV40-T, buňky RLE-6TN neexprimují gen T-antigen. Přesto si buňky RLE-6TN zachovávají kritické morfologické a funkční znaky charakteristické pro alveolární buňky typu II, včetně exprese cytokeratinu a přítomnosti lamelárních inkluzních tělísek obsahujících lipidy.

Buňky RLE-6TN byly široce používány jako in vitro model pro zkoumání biologie plicních epitelálních buněk, alveolární funkce a reakcí na různé fyziologické a patologické podněty. Jsou zvláště důležité pro studium regulace a aktivity Na-K-ATPázy v alveolárních epitelálních buňkách. Na-K-ATPáza je nezbytná pro udržování buněčných iontových gradientů a trans-epitelální transport iontů, což jsou procesy, které jsou rozhodující pro clearance alveolární tekutiny v plicích. Ve studiích bylo prokázáno, že hormon štítné žlázy (T3) stimuluje aktivitu Na-K-ATPasy v buňkách RLE-6TN spíše zvýšením její translokace do plazmatické membrány než zvýšením její transkripce, což poukazuje na nový, rychlý regulační mechanismus.

Buňky RLE-6TN vykazují stabilní růst s téměř diploidním karyotypem a nejsou tumorigenní u nahých myší. Jsou negativní na aktivitu alkalické fosfatázy, ale pozitivně se barví na cytokeratiny 8, 18 a 19, což potvrzuje jejich epitelální původ. Buňky RLE-6TN lze dlouhodobě udržovat v kultuře a slouží jako spolehlivá platforma pro mechanistické studie obnovy alveolárního epitelu, metabolismu surfaktantu a buněčných reakcí na poškození plic, toxiny a terapeutické látky.

Organism

Krysy

Tissue

Plíce

Synonyms

Plicní epitel potkana-6-T-antigen negativní

Charakteristika

Age

56 dní

Gender

Muži

Morphology

Epitelové

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje

Citation

RLE-6TN (katalogové číslo Cytion 305350)

Buňky RLE-6TN | 305350

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_4693

Biomolekulární data

Antigen expression	Cytokeratin 8; cytokeratin 19
Tumorigenic	Ne, Ne není tumorigenní u nahých myší
Viruses	SV40
Karyotype	Uvádí se, že buňky zůstávají téměř diploidní a karyotypicky stabilní od pasáže 19-70, přičemž 50 % nebo více buněk obsahuje 42 chromozomů. Při pasáži 37 byla zjištěna translokace mezi chromozomem 1 a 15, která má za následek trizomii q raménka chromozomu 1.

Zpracování

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium o 5 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:5
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky RLE-6TN | 305350

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky RLE-6TN | 305350

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.