Product sheet

Κύτταρα RLE-6TN | 305350

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά RLE-6TN είναι μια αθάνατη κυψελιδική κυτταρική σειρά κυψελίδων τύπου II αρουραίου που προέρχεται από ενήλικες αρουραίους Fischer 344. Η RLE-6TN δημιουργήθηκε μέσω αυθόρμητης αθανασίας κατά τη διάρκεια προσπαθειών εισαγωγής του γονιδίου του αντιγόνου SV40-T σε πρωτογενή κυψελιδικά επιθηλιακά κύτταρα τύπου II. Σε αντίθεση με το αντίστοιχο RLE-6T, το οποίο διαμολύνθηκε θετικά με το αντιγόνο SV40-T, τα κύτταρα RLE-6TN δεν εκφράζουν το γονίδιο του αντιγόνου T. Παρά το γεγονός αυτό, τα κύτταρα RLE-6TN διατηρούν κρίσιμα μορφολογικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά που χαρακτηρίζουν τα κυψελιδικά κύτταρα τύπου II, συμπεριλαμβανομένης της έκφρασης κυτταροκερατίνης και της παρουσίας λιπιδοπεριεχόντων ελασματοειδών σωμάτων εγκλεισμού. Τα κύτταρα RLE-6TN έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως ως in vitro μοντέλο για τη διερεύνηση της βιολογίας των επιθηλιακών κυττάρων του πνεύμονα, της κυψελιδικής λειτουργίας και των αποκρίσεων σε διάφορα φυσιολογικά και παθολογικά ερεθίσματα. Είναι ιδιαίτερα σημαντικά για τη μελέτη της ρύθμισης και της δραστηριότητας της Na-K-ATPάσης σε κυψελιδικά επιθηλιακά κύτταρα. Η Na-K-ATPase είναι απαραίτητη για τη διατήρηση των κυτταρικών βαθμίδων ιόντων και τη διαεπιθηλιακή μεταφορά ιόντων, διαδικασίες κρίσιμες για την κάθαρση του κυψελιδικού υγρού στους πνεύμονες. Σε μελέτες έχει αποδειχθεί ότι η θυρεοειδής ορμόνη (T3) διεγείρει τη δραστηριότητα της Na-K-ATPase σε κύτταρα RLE-6TN ενισχύοντας τη μετατόπισή της στην πλασματική μεμβράνη και όχι αυξάνοντας τη μεταγραφή της, αναδεικνύοντας έναν νέο, ταχύ ρυθμιστικό μηχανισμό. Τα κύτταρα RLE-6TN επιδεικνύουν σταθερή ανάπτυξη, με σταθερότητα σχεδόν διπλοειδούς καρυότυπου και δεν είναι καρκινογόνα σε γυμνά ποντίκια. Είναι αρνητικά ως προς τη δραστικότητα αλκαλικής φωσφατάσης, αλλά χρωματίζονται θετικά ως προς τις κυτταροκερατίνες 8, 18 και 19, επιβεβαιώνοντας την επιθηλιακή τους προέλευση. Τα κύτταρα RLE-6TN μπορούν να διατηρηθούν μακροχρόνια σε καλλιέργεια και χρησιμεύουν ως αξιόπιστη πλατφόρμα για μηχανιστικές μελέτες σχετικά με την επιδιόρθωση του κυψελιδικού επιθηλίου, τον μεταβολισμό του επιφανειοδραστικού και τις κυτταρικές αποκρίσεις σε τραυματισμό του πνεύμονα, τοξίνες και θεραπευτικούς παράγοντες.
Organism	Αρουραίος
Tissue	Πνεύμονας
Synonyms	Επιθηλιακό-6-T-αντιγόνο πνευμόνων αρουραίου Αρνητικό

Χαρακτηριστικά

Age	56 ημέρες
Gender	Άντρας
Morphology	Επιθηλιακό
Growth properties	Προσκολλημένο

Κύτταρα RLE-6TN | 305350

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	RLE-6TN (αριθμός καταλόγου Cytion 305350)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_4693

Βιομοριακά δεδομένα

Antigen expression	Κυτταροκερατίνη 8- κυτταροκερατίνη 19
Tumorigenic	Όχι, Όχι δεν είναι καρκινικό σε γυμνά ποντίκια
Viruses	SV40
Karyotype	Αναφέρεται ότι τα κύτταρα παραμένουν σχεδόν διπλοειδή και καρυοτυπικά σταθερά από το πέρασμα 19-70 με το 50% ή περισσότερο των κυττάρων να περιέχουν 42 χρωμοσώματα. Στο πέρασμα 37, υπήρξε μετατόπιση μεταξύ των χρωμοσωμάτων 1 και 15, η οποία οδηγεί σε τρισωμία του q βραχίονα του χρωμοσώματος 1.

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820400a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 5% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Split ratio	Συνιστάται αναλογία 1:5
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα RLE-6TN | 305350

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα RLE-6TN | 305350

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.