

RLE-6TN rakud | 305350**Üldine teave****Description**

RLE-6TN rakuliin on täiskasvanud Fischer 344 rottidest saadud immortaliseeritud roti alveolaarse II tüüpi epiteeli rakuliin. RLE-6TN loodi spontaanse immortaliseerimise teel katsete käigus viia SV40-T antigeeni geen primaarsetesse alveolaarsetesse II tüüpi epiteelirakkudesse. Erinevalt oma vaste RLE-6T, mis transfekteeriti positiivselt SV40-T antigeeniga, ei ekspresseeri RLE-6TN rakud T-antigeeni geeni. Sellele vaatamata säilitavad RLE-6TN rakud II tüüpi alveolaarsetele rakkudele iseloomulikud kriitilised morfoloogilised ja funktsionaalsed tunnused, sealhulgas tsütokeratiini ekspressiooni ja lipiide sisaldavate lamellulaarsete kinnitusekehade olemasolu.

RLE-6TN rakke on laialdaselt kasutatud in vitro mudelina kopsu epiteelirakkude bioloogia, alveoolide funktsiooni ja vastuste uurimiseks erinevatele füsioloogilistele ja patoloogilistele stiimulitele. Need on eriti olulised Na-K-ATPaasi regulatsiooni ja aktiivsuse uurimiseks alveolaarepiteelirakkudes. Na-K-ATPaas on oluline raku ioonigradiendi ja trans-epitelialse ioonitranspordi säilitamiseks, mis on kriitiline protsess kopsude alveolaarse vedeliku eemaldamiseks. Uuringutes on näidatud, et kilpnäärmehormoon (T3) stimuleerib Na-K-ATPaasi aktiivsust RLE-6TN rakkudes, suurendades selle translokatsiooni plasmamembraanile, mitte suurendades selle transkriptsiooni, mis näitab uut, kiiret regulatsioonimehhanismi.

RLE-6TN rakud näitavad stabiilset kasvu, peaaegu diploidse karüotüübi stabiilsust ja ei ole alasti hiirtel kasvujalised. Nad on negatiivsed leeliselise fosfataasi aktiivsuse suhtes, kuid värvuvad positiivselt tsütokeratiinide 8, 18 ja 19 suhtes, mis kinnitab nende epiteliaalset päritolu. RLE-6TN rakke saab pikaajaliselt kultuuris hoida ja need on usaldusväärne platvorm alveolaarse epiteeli taastamise, pindaktiivse ainevahetuse ja rakkude reaktsiooni kopsukahjustusele, toksiinidele ja terapeutilistele ainetele mehaanilisteks uuringuteks.

Organism

Rott

Tissue

Kopsud

Synonyms

Roti kopsu epiteeli-6-T-antigeeni negatiivne

Omadused**Age**

56 päeva

Gender

Mees

Morphology

Epiteel

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

RLE-6TN rakud | 305350**Citation** RLE-6TN (Cytioni katalooginumber 305350)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_4693**Biomolekulaarsed andmed****Antigen expression** Tsütokeratiin 8; tsütokeratiin 19**Tumorigenic** Ei, Ei ei ole alasti hiirtel kasvajat tekitav**Viruses** SV40**Karyotype** On teatatud, et rakud jäävad peaaegu diploidseteks ja karyotüübiliselt stabiilseteks alates 19-70 läbimisest, kusjuures 50% või rohkem rakkudest sisaldab 42 kromosoomi. Passaaži 37 ajal esines translokatsioon kromosoomi 1 ja 15 vahel, mille tulemuseks on kromosoomi 1 q haru trisoomia.**Töötlemine****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820400a)**Supplements** Täiendada keskkonda 5% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Split ratio** Soovitav on suhe 1:5**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

RLE-6TN rakud | 305350**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

RLE-6TN rakud | 305350

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.