

RLE-6TN-kennot | 305350

Yleisiä tietoja

Description

RLE-6TN-solulinja on aikuisista Fischer 344 -rotista peräisin oleva kuolematon rotan alveolaarinen tyypin II epiteelisolulinja. RLE-6TN syntyi spontaanin kuolemattomuuden kautta, kun SV40-T-antigeenigeeniä yritettiin tuoda primaarisiin alveolaarisiin tyypin II epiteelisoluihin. Toisin kuin sen vastine RLE-6T, joka transfektoitiin positiivisesti SV40-T-antigeenillä, RLE-6TN-solut eivät ilmentäisi T-antigeenigeeniä. Tästä huolimatta RLE-6TN-solut säilyttävät alveolaarisille tyypin II soluille ominaiset kriittiset morfologiset ja toiminnalliset piirteet, kuten sytokeratiinin ilmentymisen ja lipidiä sisältävien lamellulaaristen inkluusiokappaleiden esiintymisen.

RLE-6TN-soluja on käytetty laajalti in vitro -mallina keuhkoepiteelisolujen biologian, alveolien toiminnan ja erilaisiin fysiologisiin ja patologistiin ärsykkeisiin reagoimisen tutkimiseen. Ne ovat erityisen tärkeitä tutkittaessa Na-K-ATPaasin säätelyä ja aktiivisuutta alveoliepiteelisoluissa. Na-K-ATPaasi on välttämätön solujen ionigradienttien ylläpitämisessä ja trans-epiteeliaalisessa ionikuljetuksessa, jotka ovat kriittisiä prosesseja keuhkojen alveolaarisen nesteen puhdistumisen kannalta. Tutkimuksissa on osoitettu, että kilpirauhashormoni (T3) stimuloi Na-K-ATPaasin aktiivisuutta RLE-6TN-soluissa pikemminkin lisäämällä sen translokaatiota plasmakalvoon kuin lisäämällä sen transkriptiota, mikä osoittaa uudenlaisen, nopean säätelymekanismin.

RLE-6TN-solut kasvavat vakaasti, niiden karyotyyppi on lähes diploidinen, eivätkä ne ole nude-hiirillä kasvaimia aiheuttavia. Ne ovat negatiivisia alkalisen fosfataasiaktiivisuuden suhteen, mutta värjäytyvät positiivisesti sytokeratiinien 8, 18 ja 19 suhteen, mikä vahvistaa niiden epiteeliperäisyyden. RLE-6TN-soluja voidaan ylläpitää pitkäaikaisesti viljelyssä, ja ne toimivat luotettavana alustana alveoliepiteelin korjautumista, surfaktantin aineenvaihduntaa ja solujen vasteita keuhkovaurioihin, toksineihin ja terapeuttisiin aineisiin koskevilla mekanismilla tutkimuksissa.

Organism	Rotta
Tissue	Keuhkot
Synonyms	Rotan keuhkojen epiteeli-6-T-antigeeni Negatiivinen

Ominaisuudet

Age	56 päivää
Gender	Mies
Morphology	Epiteeli
Growth properties	Tarttuva

Säätelytiedot

RLE-6TN-kennot | 305350

Citation	RLE-6TN (Cytionin luettelonumero 305350)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_4693

Biomolekyylitiedot

Antigen expression	Sytokeratiini 8; sytokeratiini 19
Tumorigenic	Ei, Ei kasvaimia aiheuttava alastomilla hiirillä
Viruses	SV40
Karyotype	Solujen on raportoitu pysyvän lähes diploidisina ja karyotyypillisesti stabiileina läpikäyntikierrosta 19-70, jolloin vähintään 50 % soluista sisältää 42 kromosomia. Läpikäynnissä 37 kromosomien 1 ja 15 välillä oli translokaatio, joka johtaa kromosomin 1 q-varren trisomiaan.

Käsittely

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820400a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 5 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Split ratio	Suosittelava suhde on 1:5
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

RLE-6TN-kennot | 305350

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

RLE-6TN-kennot | 305350

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.