

RLE-6TN elementai | 305350**Bendra informacija****Description**

RLE-6TN ląstelių linija yra imortalizuota žiurkių II tipo alveolių epitelio ląstelių linija, gauta iš suaugusių Fischer 344 žiurkių. RLE-6TN buvo sukurta spontaniškai imortalizuojantis, kai buvo bandoma į pirmines II tipo alveolių epitelio ląsteles įvesti SV40-T antigeno geną. Skirtingai nuo analogiškos RLE-6T, kuri buvo teigiamai transfekuota SV40-T antigenu, RLE-6TN ląstelės neišreiškia T antigeno geno. Nepaisant to, RLE-6TN ląstelės išlaiko svarbiausias morfologines ir funkcines savybes, būdingas II tipo alveolinėms ląstelėms, įskaitant citokeratino raišką ir lipidų turinčius plokštelines inkliuzinius kūnelius.

RLE-6TN ląstelės plačiai naudojamos kaip in vitro modelis plaučių epitelio ląstelių biologijai, alveolių funkcijai ir reakcijai į įvairius fiziologinius ir patologinius dirgiklius tirti. Jos ypač svarbios tiriant Na-K-ATPazės reguliavimą ir aktyvumą alveolių epitelio ląstelėse. Na-K-ATPazė yra labai svarbi ląstelių jonų gradientų palaikymui ir jonų pernešimui per epitelį - procesams, kurie yra labai svarbūs alveolinio skysčio šalinimui plaučiuose. Tyrimais nustatyta, kad skydliaukės hormonas (T3) stimuliuoja Na-K-ATPazės aktyvumą RLE-6TN ląstelėse ne didindamas jos transkripciją, o didindamas jos perkėlimą į plazminę membraną.

RLE-6TN ląstelės stabiliai auga, jų kariotipas yra beveik diploidinis ir jos nėra navikinės nuogoms pelėms. Jų šarminės fosfatazės aktyvumas yra neigiamas, tačiau teigiamai nustatomi 8, 18 ir 19 citokeratinai, o tai patvirtina jų epitelinę kilmę. RLE-6TN ląstelės gali būti ilgai išlaikomos kultūroje ir yra patikima platforma alveolinio epitelio atstatymo, paviršinio aktyvumo medžiagų apykaitos ir ląstelių atsako į plaučių pažeidimus, toksinus ir gydomąsias medžiagas mechanistiniams tyrimams.

Organism

Žiurkės

Tissue

Plaučiai

Synonyms

Žiurkių plaučių epitelio 6-T-antigenas neigiamas

Charakteristikos**Age**

56 dienos

Gender

Vyras

Morphology

Epitelis

Growth properties

Priglundęs

Reguliavimo duomenys**Citation**

RLE-6TN (Cytion katalogo numeris 305350)

RLE-6TN elementai | 305350

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_4693

Biomolekuliniai duomenys

Antigen expression	Citokeratinas 8; citokeratinas 19
Tumorigenic	Ne, ne, nėra navikogeniškas nuogoms pelėms
Viruses	SV40
Karyotype	Pranešama, kad ląstelės išlieka beveik diploidinės ir kariotipiškai stabilios nuo 19 iki 70 išėjimo, o 50 % ar daugiau ląstelių turi 42 chromosomas. Per 37 perėjimą buvo nustatyta translokacija tarp 1 ir 15 chromosomų, dėl kurios atsirado 1 chromosomos q peties trisomija.

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)
Supplements	Papildykite terpę 5 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Split ratio	Rekomenduojamas santykis 1:5
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

RLE-6TN elementai | 305350

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

**Freezing
Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

RLE-6TN elementai | 305350

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje.
Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.