

## RLE-6TN šūnas | 305350

## Vispārīga informācija

## Description

RLE-6TN šūnu līnija ir imortizēta žurku II tipa alveolārā epitēlija šūnu līnija, kas iegūta no pieaugušām Fischer 344 žurkām. RLE-6TN tika izveidota, spontāni imortalizējoties, mēģinot ieviest SV40-T antigēna gēnu primārajās alveolārā II tipa epitēlija šūnās. Atšķirībā no tās kolēģes RLE-6T, kas tika pozitīvi transficēta ar SV40-T antigēnu, RLE-6TN šūnas neekspresē T-antigēna gēnu. Neraugoties uz to, RLE-6TN šūnas saglabā kritiskās morfoloģiskās un funkcionālās iezīmes, kas raksturīgas II tipa alveolārajām šūnām, tostarp citokeratīna ekspresiju un lipīdus saturošu plāksņainu ieslēgumu klātbūtni.

RLE-6TN šūnas ir plaši izmantotas kā in vitro modelis plaušu epitēlija šūnu bioloģijas, alveolu funkciju un reakciju uz dažādiem fizioloģiskiem un patoloģiskiem stimuliem pētījumiem. Tās ir īpaši piemērotas Na-K-ATPāzes regulācijas un aktivitātes izpētei alveolārajās epitēlija šūnās. Na-K-ATPāzei ir būtiska nozīme šūnu jonu gradientu uzturēšanā un jonu trans-epitēlija transportā, kas ir kritiski svarīgi procesi alveolārā šķidrums attīrīšanai plaušās. Pētījumos pierādīts, ka vairogdziedzera hormons (T3) stimulē Na-K-ATPāzes aktivitāti RLE-6TN šūnās, pastiprinot tās pārvietošanos uz plazmas membrānu, nevis palielinot tās transkripciju, tādējādi uzsverot jaunu, ātru regulēšanas mehānismu.

RLE-6TN šūnas uzrāda stabilu augšanu ar gandrīz diploīdā kariotipa stabilitāti un nav audzējamas nude peļu organismā. Tām ir negatīva sārmainās fosfatāzes aktivitāte, bet pozitīvi krāsojas 8., 18. un 19. citokeratīna noteikšanai, kas apstiprina to epitēlija izcelsmi. RLE-6TN šūnas var ilgstoši uzturēt kultūrā, un tās var kalpot kā uzticama platforma mehāniskajiem pētījumiem par alveolārā epitēlija atjaunošanos, virsmaktanta metabolismu un šūnu reakciju uz plaušu bojājumiem, toksīniem un terapeitiskiem līdzekļiem.

<b>Organism</b>	Žurkas
<b>Tissue</b>	Plaušas
<b>Synonyms</b>	Žurku plaušu epitēlija-6-T-antigēns Negatīvs

## Raksturojums

<b>Age</b>	56 dienas
<b>Gender</b>	Vīrieši
<b>Morphology</b>	Epitēlija
<b>Growth properties</b>	Adherent

## Normatīvie dati

<b>Citation</b>	RLE-6TN (Cytion kataloga numurs 305350)
-----------------	---

## RLE-6TN šūnas | 305350

<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10116
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4693

## Biomolekulārie dati

**Antigen expression** Citokeratīns 8; citokeratīns 19

**Tumorigenic** Nē, nude pelēm nav tumorģenēnisks

**Viruses** SV40

**Karyotype** Tiek ziņots, ka šūnas ir gandrīz diploīdas un kariotipiski stabilas no 19. līdz 70. gājienam, un 50 % vai vairāk šūnu satur 42 hromosomas. 37. pārejā tika konstatēta translokācija starp 1. un 15. hromosomu, kas izraisa 1. hromosomas q atzara trisomiju.

## Darbs ar

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)

**Supplements** Papildināt barotni ar 5% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Split ratio** Ieteicamais proporcijas attiecība ir 1:5

**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā

**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

## RLE-6TN šūnas | 305350

### Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par  $-150^{\circ}\text{C}$ , lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to  $37^{\circ}\text{C}$  ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar  $300 \times g$  3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

### Flask Coating

Neviens

### Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

## RLE-6TN šūnas | 305350

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.