

RLE-6TN Cellen | 305350**Algemene informatie****Description**

De RLE-6TN cellijn is een geïmmortaliseerde ratten alveolaire type II epitheelcellijn afkomstig van volwassen Fischer 344 ratten. RLE-6TN is ontstaan door spontane immortalisatie tijdens pogingen om het SV40-T antigeengen te introduceren in primaire alveolaire type II epitheelcellen. In tegenstelling tot zijn tegenhanger RLE-6T, die positief was getransfecteerd met het SV40-T-antigeen, brengen RLE-6TN-cellen het T-antigeengen niet tot expressie. Desondanks behouden RLE-6TN cellen cruciale morfologische en functionele kenmerken die kenmerkend zijn voor alveolaire type II cellen, waaronder cytokeratine expressie en de aanwezigheid van lipide-bevattende lamellaire inclusielichamen.

RLE-6TN cellen zijn op grote schaal gebruikt als een in vitro model voor het onderzoeken van de biologie van longepitheelcellen, de alveolaire functie en reacties op verschillende fysiologische en pathologische stimuli. Ze zijn met name relevant voor het bestuderen van Na-K-ATPase regulatie en activiteit in alveolaire epitheelcellen. Na-K-ATPase is essentieel voor het handhaven van cellulaire ionengradiënten en trans-epitheliaal ionentransport, processen die cruciaal zijn voor de klaring van alveolair vocht in de longen. In studies werd aangetoond dat schildklierhormoon (T3) de Na-K-ATPase activiteit in RLE-6TN cellen stimuleert door de translocatie naar de plasmamembraan te verbeteren in plaats van de transcriptie te verhogen, wat wijst op een nieuw, snel reguleringsmechanisme.

RLE-6TN cellen vertonen een stabiele groei, met een bijna-diploïde karyotype en zijn niet tumorigeen in naakte muizen. Ze zijn negatief voor alkalische fosfatase activiteit maar kleuren positief voor cytokeratines 8, 18 en 19, wat hun epitheliale oorsprong bevestigt. RLE-6TN cellen kunnen langdurig in kweek worden gehouden en dienen als een betrouwbaar platform voor mechanistische studies naar alveolaire epitheelherstel, surfactant metabolisme en cellulaire reacties op longschade, toxines en therapeutische middelen.

Organism Rat**Tissue** Long**Synonyms** Ratten long epitheel-6-T-antigeen negatief**Kenmerken****Age** 56 dagen**Gender** Mannelijk**Morphology** Epitheel**Growth properties** Aanhangend**Regelgevende gegevens**

RLE-6TN Cellen | 305350**Citation** RLE-6TN (Cytion catalogusnummer 305350)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_4693**Biomoleculaire gegevens****Antigen expression** Cytokeratine 8; cytokeratine 19**Tumorigenic** Nee, geen tumorigenicum in naakte muizen**Viruses** SV40**Karyotype** Cellen blijven naar verluidt bijna diploïd en karyotypisch stabiel vanaf passage 19-70 met 50% of meer van de cellen die 42 chromosomen bevatten. Bij passage 37 was er een translocatie tussen chromosoom 1 en 15 die resulteerde in trisomie van de q-arm van chromosoom 1.**Omgaan met****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamine, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvaat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820400a)**Supplements** Vul het medium aan met 5% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Split ratio** Een verhouding van 1:5 wordt aanbevolen**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

RLE-6TN Cellen | 305350

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

RLE-6TN Cellen | 305350

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility

Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.