

Células RLE-6TN | 305350**Informações gerais****Description**

A linha de células RLE-6TN é uma linha de células epiteliais alveolares tipo II imortalizadas de ratos Fischer 344 adultos. A RLE-6TN foi estabelecida através de imortalização espontânea durante tentativas de introduzir o gene do antígeno SV40-T em células epiteliais alveolares primárias do tipo II. Ao contrário da sua homóloga RLE-6T, que foi transfectada positivamente com o antígeno SV40-T, as células RLE-6TN não expressam o gene do antígeno T. Apesar disso, as células RLE-6TN mantêm características morfológicas e funcionais críticas características das células alveolares do tipo II, incluindo a expressão de citoqueratina e a presença de corpos de inclusão lamelares contendo lípidos.

As células RLE-6TN têm sido amplamente utilizadas como modelo in vitro para investigar a biologia das células epiteliais do pulmão, a função alveolar e as respostas a vários estímulos fisiológicos e patológicos. São particularmente relevantes para o estudo da regulação e atividade da Na-K-ATPase nas células epiteliais alveolares. A Na-K-ATPase é essencial para manter os gradientes iônicos celulares e o transporte iônico trans-epitelial, processos críticos para a depuração do líquido alveolar nos pulmões. Em estudos, foi demonstrado que a hormona tiroideia (T3) estimula a atividade da Na-K-ATPase nas células RLE-6TN, aumentando a sua translocação para a membrana plasmática, em vez de aumentar a sua transcrição, o que evidencia um novo e rápido mecanismo de regulação.

As células RLE-6TN demonstram um crescimento estável, com estabilidade do cariótipo quase diploide, e não são tumorigênicas em ratinhos nus. São negativas para a atividade da fosfatase alcalina, mas apresentam coloração positiva para as citoqueratinas 8, 18 e 19, confirmando a sua origem epitelial. As células RLE-6TN podem ser mantidas a longo prazo em cultura e servem como uma plataforma fiável para estudos mecanicistas sobre a reparação do epitélio alveolar, o metabolismo do surfactante e as respostas celulares a lesões pulmonares, toxinas e agentes terapêuticos.

Organism

Rato

Tissue

Pulmão

Synonyms

Negativo para o antígeno 6-T do epitélio do pulmão do rato

Caraterísticas**Age**

56 dias

Gender

Masculino

Morphology

Epitelial

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares

Células RLE-6TN | 305350**Citation** RLE-6TN (número de catálogo Cytion 305350)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_4693**Dados biomoleculares****Antigen expression** Citoqueratina 8; citoqueratina 19**Tumorigenic** Não, Não não é tumorigénico em ratinhos nus**Viruses** SV40**Karyotype** As células permanecem quase diplóides e cariotipicamente estáveis desde a passagem 19-70, com 50% ou mais das células contendo 42 cromossomas. Na passagem 37, verificou-se uma translocação entre os cromossomas 1 e 15, que resulta na trissomia do braço q do cromossoma 1.**Manuseamento****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820400a)**Supplements** Completar o meio com 5% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Split ratio** Recomenda-se uma proporção de 1:5**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células RLE-6TN | 305350

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células RLE-6TN | 305350

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.