

Bunky RLE-6TN | 305350**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia RLE-6TN je imortalizovaná línia alveolárnych epitelových buniek potkanov typu II získaná z dospelých potkanov Fischer 344. RLE-6TN vznikla spontánnou imortalizáciou počas pokusov o zavedenie antigénu SV40-T do primárnych alveolárnych epitelových buniek typu II. Na rozdiel od svojho náprotivku RLE-6T, ktorý bol pozitívne transfekovaný antigénom SV40-T, bunky RLE-6TN neexprimujú gén T-antigénu. Napriek tomu si bunky RLE-6TN zachovávajú kritické morfológické a funkčné vlastnosti charakteristické pre alveolárne bunky typu II vrátane expresie cytokeratínu a prítomnosti lamelárnych inklúzných teliesok obsahujúcich lipidy.

Bunky RLE-6TN sa široko používajú ako in vitro model na skúmanie biológie pľúcnych epitelových buniek, alveolárnej funkcie a reakcií na rôzne fyziologické a patologické podnety. Sú obzvlášť dôležité na štúdium regulácie a aktivity Na-K-ATPázy v alveolárnych epitelových bunkách. Na-K-ATPáza je nevyhnutná na udržiavanie bunkových iónových gradientov a trans-epitelového transportu iónov, čo sú procesy rozhodujúce pre klírens alveolárnej tekutiny v pľúcach. V štúdiách sa ukázalo, že hormón štítnej žľazy (T3) stimuluje aktivitu Na-K-ATPázy v bunkách RLE-6TN skôr zvýšením jej translokácie do plazmatickej membrány než zvýšením jej transkripcie, čo poukazuje na nový, rýchly regulačný mechanizmus.

Bunky RLE-6TN vykazujú stabilný rast s takmer diploidným karyotypom a nie sú nádorové u nahých myší. Ich aktivita alkalickej fosfatázy je negatívna, ale sú pozitívne na cytokeratíny 8, 18 a 19, čo potvrdzuje ich epitelový pôvod. Bunky RLE-6TN sa môžu dlhodobo udržiavať v kultúre a slúžia ako spoľahlivá platforma na mechanistické štúdie obnovy alveolárneho epitelu, metabolizmu surfaktantu a bunkových reakcií na poškodenie pľúc, toxíny a terapeutické látky.

Organism Krysy**Tissue** Pľúca**Synonyms** Pľúcny epitel potkana 6-T-antigén negatívny**Charakteristika****Age** 56 dní**Gender** Muži**Morphology** Epitelové**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** RLE-6TN (katalógové číslo Cytion 305350)

Bunky RLE-6TN | 305350**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_4693**Biomolekulárne údaje****Antigen expression** Cytokeratín 8; cytokeratín 19**Tumorigenic** Nie, nie je tumorigénny u nahých myší**Viruses** SV40**Karyotype** Uvádza sa, že bunky zostávajú takmer diploidné a karyotypicky stabilné od štádia 19-70, pričom 50 % alebo viac buniek obsahuje 42 chromozómov. Pri pasáži 37 sa vyskytla translokácia medzi chromozómom 1 a 15, ktorá vedie k trizómii ramena q chromozómu 1.**Spracovanie****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-glutamínu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplňte médium o 5 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Split ratio** Odporúča sa pomer 1:5**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky RLE-6TN | 305350

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky RLE-6TN | 305350

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.