

**Buňky MLE-12 | 305314****Obecné informace****Description**

MLE-12 je linie myších plicních epitelálních buněk vytvořená z distálního respiračního epitelu pomocí transgenních myší exprimujících velký nádorový antigen simiálního viru 40 (SV40) pod kontrolou promotoru lidského surfaktantového proteinu C (SP-C). Tato buněčná linie se vyznačuje schopností zachovat si určité vlastnosti alveolárních buněk typu II, jako je exprese surfaktantových proteinů SP-B a SP-C, které jsou klíčové pro syntézu plicního surfaktantu a funkci plic. Buňky MLE-12 rovněž vykazují klíčové morfologické znaky alveolárních buněk typu II, včetně mikrovilů a multivesikulárních tělísek, ačkoli v pozdějších pasážích postrádají některé znaky, jako jsou lamelární tělíška.

Buněčná linie MLE-12 se široce používá ke studiu regulace surfaktantových proteinů, sekrece a plicních reakcí na podněty. Vylučuje fosfolipidy v reakci na různé sekretagogy, jako je ATP a estery fosforu, čímž napodobuje aspekty funkce alveolárních buněk typu II. Zatímco tato sekrece je silná v časných fázích, v pozdějších fázích se snižuje spolu se změnami v reakcích zprostředkovaných receptory. Tento model je zvláště cenný pro zkoumání mechanismů, které jsou základem syndromů respirační tísně a nedostatku surfaktantu. Kromě toho tato buněčná linie nabízí poznatky o plicní karcinogenezi vzhledem k tomu, že je odvozena od nádorového bujení vyvolaného SV40.

Buňky MLE-12 slouží jako nástroj pro objasnění cest zpracování proteinů surfaktantu a testování terapeutických strategií pro náhradu surfaktantu. Díky udržování exprese SP-C, markeru specifického pro alveolární epitel, jsou vhodným in vitro modelem pro zkoumání procesů a onemocnění specifických pro plíce.

**Organism** Myš**Tissue** Plíce**Disease** Normální**Synonyms** MLE 12, MLE12, Murine Lung Epithelial-12**Charakteristika****Breed/Subspecies** FVB/N-Tg(SFTPC-TAg)5.1Jaw transgenní**Age** 5 měsíců**Gender** Ženy**Morphology** Epitelu podobné**Cell type** Epitelová buňka

**Buňky MLE-12 | 305314**

**Growth properties** Adherentní

**Regulační údaje**

**Citation** MLE-12 (katalogové číslo Cytion 305314)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_3751

**GMO Status** GMO-S1: Tato linie myších plicních epitelálních buněk (MLE-12) obsahuje konstrukt SV40 T-Antigen zavedený transfekcí, který podporuje imortalizaci primárních plicních epitelálních buněk. Vložka je stabilně integrovaná. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

**Biomolekulární data**

**Protein expression** Expresí genů: plicní surfaktantové proteiny B, C (SP-B, SP-C)

**Tumorigenic** Ano, u nahých myší

**Viruses** Transformant: Simian virus 40 (SV40)

**Zpracování**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

**Supplements** Doplňte médium o 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Odstraňte staré médium z adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

**Buňky MLE-12 | 305314****Split ratio** Doporučuje se poměr 1:5 až 1:10**Fluid renewal** 2krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryem.**Thawing and Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, zvlhčená atmosféra.**Flask Coating** Žádný

## Buňky MLE-12 | 305314

### Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.