

MLE-12-celler | 305314

Generel information

Description

MLE-12 er en murin lungeepitelcellelinje etableret fra distalt respiratorisk epitel ved hjælp af transgene mus, der udtrykker simian virus 40 (SV40) stort tumorantigen under kontrol af den humane surfactant protein C (SP-C)-promotor. Denne cellelinje er kendetegnet ved sin evne til at opretholde visse egenskaber ved alveolære type II-celler, såsom udtrykket af surfaktantproteinerne SP-B og SP-C, som er afgørende for syntese af lungesurfaktant og lungefunktion. MLE-12-celler udviser også vigtige morfologiske træk ved alveolære type II-celler, herunder mikrovilli og multivesikulære legemer, selv om de mangler nogle træk som lamellære legemer i senere passager.

MLE-12-cellelinjen bruges i vid udstrækning til at studere regulering og udskillelse af overfladeaktive proteiner og lungernes reaktion på stimuli. Den udskiller fosfolipider som reaktion på forskellige sekretagoger som ATP og phorbolestere, hvilket efterligner aspekter af type II-alveolærcellefunktionen. Mens denne udskillelse er robust i de tidlige stadier, aftager den i de senere stadier sammen med ændringer i receptormedierede reaktioner. Denne model er særlig værdifuld til at udforske de mekanismer, der ligger til grund for respiratoriske distress-syndromer og surfactant-mangel. Derudover giver cellelinjen indsigt i lungekarcinogenese, da den stammer fra SV40-drevet tumorigenese.

MLE-12-celler fungerer som et værktøj til at belyse vejene til behandling af overfladeaktivt protein og til at teste terapeutiske strategier til erstatning af overfladeaktivt stof. Deres opretholdelse af SP-C-ekspression, en markør, der er specifik for det alveolære epitel, gør dem til en relevant in vitro-model til undersøgelse af lungespecifikke processer og sygdomme.

Organism

Mus

Tissue

Lunge

Disease

Normal

Synonyms

MLE 12, MLE12, Murine Lung Epithelial-12

Karakteristika

Breed/Subspecies

FVB/N-Tg(SFTPC-TAg)5.1Jaw transgenisk

Age

5 måneder

Gender

Kvinde

Morphology

Epitel-lignende

Cell type

Epitelcelle

MLE-12-celler | 305314

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation MLE-12 (Cytion katalognummer 305314)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_3751**GMO Status** GMO-S1: Denne murine lungeepitelcellelinje (MLE-12) indeholder en SV40 T-antigenkonstruktion, der er indført via transfektion, og som understøtter udødeliggørelse af primære lungeepitelceller. Indsatsen er stabilt integreret. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Protein expression Udtrykte gener: lungesurfaktantproteiner B, C (SP-B, SP-C)**Tumorigenic** Yees, i nøgne mus**Viruses** Transformant: Simian virus 40 (SV40)

Håndtering

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

MLE-12-celler | 305314**Fluid renewal** 2 gange om ugen**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.**Thawing and
Culturing Cells**

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryoviolet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturbolbe; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-bolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

**Incubation
Atmosphere** 37°C, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.**Flask Coating** Ingen

MLE-12-celler | 305314

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.