

MLE-12-Zellen | 305314

Allgemeine Informationen

Description

MLE-12 ist eine murine Lungenepithelzelllinie, die aus distalem respiratorischem Epithel unter Verwendung transgener Mäuse hergestellt wurde, die das große Tumorantigen des Simian-Virus 40 (SV40) unter der Kontrolle des menschlichen Surfactant-Proteins C (SP-C) exprimieren. Diese Zelllinie zeichnet sich durch die Fähigkeit aus, bestimmte Eigenschaften von alveolären Typ-II-Zellen aufrechtzuerhalten, wie z. B. die Expression der Surfactant-Proteine SP-B und SP-C, die für die Surfactant-Synthese in der Lunge und die Lungenfunktion entscheidend sind. MLE-12-Zellen weisen auch wichtige morphologische Merkmale von Alveolar-Typ-II-Zellen auf, darunter Mikrovilli und multivesikuläre Körper, obwohl ihnen in späteren Passagen einige Merkmale wie Lamellenkörper fehlen.

Die MLE-12-Zelllinie wird häufig zur Untersuchung der Regulierung von Surfactant-Proteinen, der Sekretion und der Reaktion der Lunge auf Stimuli verwendet. Sie sezerniert Phospholipide als Reaktion auf verschiedene Sekretagoga wie ATP und Phorbol ester und ahmt damit Aspekte der Funktion von Typ-II-Alveolarzellen nach. Während diese Sekretion in frühen Passagen stark ist, nimmt sie in späteren Passagen ab, zusammen mit Veränderungen der rezeptorvermittelten Reaktionen. Dieses Modell ist besonders wertvoll für die Erforschung der Mechanismen, die Atemnotsyndromen und Surfactant-Mangel zugrunde liegen. Darüber hinaus bietet die Zelllinie Einblicke in die pulmonale Karzinogenese, da sie von einer SV40-gesteuerten Tumorgenese abstammt.

MLE-12-Zellen dienen als Werkzeug zur Aufklärung der Wege der Surfactant-Proteinverarbeitung und zum Testen therapeutischer Strategien für den Surfactant-Ersatz. Die Aufrechterhaltung der SP-C-Expression, eines für das Alveolarepithel spezifischen Markers, macht sie zu einem relevanten In-vitro-Modell für die Untersuchung lungenspezifischer Prozesse und Krankheiten.

Organism Maus

Tissue Lunge

Disease Normal

Synonyms MLE 12, MLE12, Mäuse-Lungenepithel-12

Merkmale

Breed/Subspecies FVB/N-Tg(SFTPC-TAg)5.1Kiefer transgene

Age 5 Monate

Gender Weiblich

Morphology Epithelähnlich

Cell type Epithelzelle

MLE-12-Zellen | 305314

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

Citation MLE-12 (Cytion Katalognummer 305314)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3751

GMO Status GMO-S1: Diese murine Lungenepithelzelllinie (MLE-12) enthält ein durch Transfektion eingeführtes SV40 T-Antigen-Konstrukt, das die Immortalisierung primärer Lungenepithelzellen unterstützt. Das Insert ist stabil integriert. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Protein expression Ausgedrückte Gene: Lungensurfactant-Proteine B, C (SP-B, SP-C)

Tumorigenic Ja, in Nacktmäusen

Viruses Transformant: Simian-Virus 40 (SV40)

Handhabung

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

MLE-12-Zellen | 305314

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Split ratio Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:5 bis 1:10

Fluid renewal 2 Mal pro Woche

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

MLE-12-Zellen | 305314

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating Keine

Freezing Procedure Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.