

## Κύτταρα MLE-12 | 305314

## Γενικές πληροφορίες

## Description

Η MLE-12 είναι μια σειρά πνευμονικών επιθηλιακών κυττάρων ποντικού που δημιουργήθηκε από το απομακρυσμένο αναπνευστικό επιθήλιο με τη χρήση διαγονιδιακών ποντικών που εκφράζουν το μεγάλο αντιγόνο όγκου του ιού των πιθήκων 40 (SV40) υπό τον έλεγχο του υποκινητή της ανθρώπινης επιφανειοδραστικής πρωτεΐνης C (SP-C). Αυτή η κυτταρική σειρά χαρακτηρίζεται από την ικανότητά της να διατηρεί ορισμένες ιδιότητες κυψελιδικών κυττάρων τύπου II, όπως η έκφραση των επιφανειοδραστικών πρωτεϊνών SP-B και SP-C, οι οποίες είναι ζωτικής σημασίας για τη σύνθεση του πνευμονικού επιφανειοδραστικού και την πνευμονική λειτουργία. Τα κύτταρα MLE-12 εμφανίζουν επίσης βασικά μορφολογικά χαρακτηριστικά κυψελιδικών κυττάρων τύπου II, συμπεριλαμβανομένων των μικροβελόνων και των πολυκυψελιδικών σωμάτων, αν και στερούνται ορισμένων χαρακτηριστικών όπως τα ελασματοειδή σώματα σε μεταγενέστερα περάσματα.

Η κυτταρική σειρά MLE-12 χρησιμοποιείται ευρέως για τη μελέτη της ρύθμισης της επιφανειοδραστικής πρωτεΐνης, της έκκρισης και των πνευμονικών αποκρίσεων σε ερεθίσματα. Εκκρίνει φωσφολιπίδια σε απόκριση σε διάφορους εκκριματογόνους παράγοντες, όπως ATP και εστέρες φορβόλης, μιμούμενη πτυχές της λειτουργίας κυψελιδικών κυττάρων τύπου II. Ενώ αυτή η έκκριση είναι ισχυρή στα πρώτα περάσματα, μειώνεται στα μεταγενέστερα περάσματα, μαζί με αλλαγές στις αποκρίσεις που διαμεσολαβούνται από υποδοχείς. Αυτό το μοντέλο είναι ιδιαίτερα πολύτιμο για τη διερεύνηση των μηχανισμών που διέπουν τα σύνδρομα αναπνευστικής δυσχέρειας και τις ανεπάρκειες επιφανειοδραστικής ουσίας. Επιπλέον, η κυτταρική σειρά προσφέρει γνώσεις σχετικά με την πνευμονική καρκινογένεση, δεδομένης της προέλευσής της από την καρκινογένεση με βάση το SV40.

Τα κύτταρα MLE-12 χρησιμεύουν ως εργαλείο για τη διαλεύκανση των μονοπατιών επεξεργασίας της επιφανειοδραστικής πρωτεΐνης και τη δοκιμή θεραπευτικών στρατηγικών για την αντικατάσταση της επιφανειοδραστικής ουσίας. Η διατήρηση της έκφρασης του SP-C, ενός δείκτη ειδικού για το κυψελιδικό επιθήλιο, τα καθιστά ένα σχετικό *in vitro* μοντέλο για τη διερεύνηση διεργασιών και ασθενειών που σχετίζονται με τον πνεύμονα.

## Organism

Ποντίκι

## Tissue

Πνεύμονας

## Disease

Κανονικό

## Synonyms

MLE 12, MLE12, Επιθηλιακό-12 του πνεύμονα του ποντικού

## Χαρακτηριστικά

## Breed/Subspecies

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

## Age

5 μήνες

## Gender

Γυναίκα

**Κύτταρα MLE-12 | 305314****Morphology** Επιθηλιοειδής**Cell type** Επιθηλιακό κύτταρο**Growth properties** Προσκολλημένο**Ρυθμιστικά δεδομένα****Citation** MLE-12 (αριθμός καταλόγου Cytion 305314)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_3751**GMO Status** ΓΤΟ-S1: Αυτή η γραμμή πνευμονικών κυττάρων ποντικού (MLE-12) περιέχει μια κατασκευή SV40 T-αντιγόνου που εισάγεται μέσω διαμόλυνσης, υποστηρίζοντας την αθανатоποίηση πρωτογενών πνευμονικών επιθηλιακών κυττάρων. Το ένθετο είναι σταθερά ενσωματωμένο. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.**Βιομοριακά δεδομένα****Protein expression** Γονίδια που εκφράζονται: επιφανειοδραστικές πρωτεΐνες Β, C του πνεύμονα (SP-B, SP-C)**Tumorigenic** Ναι, σε γυμνά ποντίκια**Viruses** Μετασχηματιστής: Simian virus 40 (SV40)**Χειρισμός****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

**Κύτταρα MLE-12 | 305314**

**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

**Fluid renewal** 2 φορές την εβδομάδα

**Freeze medium** Ως μέσο κρυσταλλοποίησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυσταλλοποίηση.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυσταλλοποιημένο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυσταλλοποιημένο φιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

## Κύτταρα MLE-12 | 305314

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

**Flask Coating** Κανένα

**Freezing Procedure** Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Shipping Conditions** Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Storage Conditions** Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

## Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

**Sterility** Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.