

MLE-12 rakud | 305314

Üldine teave

Description

MLE-12 on hiirte kopsuepiteeli rakuliin, mis on loodud distaalsest hingamisteede epiteelist, kasutades transgeenseid hiiri, kes ekspresseerivad simian virus 40 (SV40) suurt tuumoriantigeeni inimese surfaktandi C (SP-C) promootori kontrolli all. Seda rakuliini iseloomustab võime säilitada teatud alveolaarsete II tüüpi rakkude omadusi, nagu surfaktandi valkude SP-B ja SP-C ekspressioon, mis on olulised kopsu surfaktandi sünteesi ja kopsufunktsiooni jaoks. MLE-12 rakkudel on ka II tüüpi alveolaarsete rakkude peamised morfoloogilised omadused, sealhulgas mikrovillid ja multivesikulaarsed kehad, kuigi neil puuduvad mõned omadused, nagu lamellilised kehad hilisemates faasides.

MLE-12 rakuliini kasutatakse laialdaselt surfaktandi valkude regulatsiooni, sekretsiooni ja kopsu reaktsioonide uurimiseks stiimulitele. See eritab fosfolipiide vastuseks erinevatele sekretsiooni tekitavatele ainetele, nagu ATP ja forbolestrid, jäljendades II tüüpi alveolaarrakkude funktsiooni aspekte. Kuigi see sekretsioon on varajases staadiumis tugev, väheneb see hilisemas staadiumis koos muutustega retseptor-vahendatud reaktsioonides. See mudel on eriti väärtuslik hingamishäirete ja pindaktiivse aine puudulikkuse aluseks olevate mehhanismide uurimiseks. Lisaks pakub see rakuliin teadmisi kopsukartsinogeneesi kohta, kuna see pärineb SV40-juhitud kasvajate tekkest.

MLE-12 rakud on vahendiks surfaktandi valkude töötlemise radade selgitamisel ja surfaktandi asendamise terapeutiliste strateegiate katsetamisel. Nende SP-C ekspressiooni säilitamine, mis on alveolaarepiteelile iseloomulik marker, teeb neist asjakohase in vitro mudeli kopsuspetsiifiliste protsesside ja haiguste uurimiseks.

Organism Hiir

Tissue Kopsud

Disease Tavaline

Synonyms MLE 12, MLE12, Murine Lung Epithelial-12, Murine Lung Epithelial-12

Omadused

Breed/Subspecies FVB/N-Tg(SFTPC-TAg)5.1Jaw transgeeniline

Age 5 kuud

Gender Naised

Morphology Epiteelilaadsed

Cell type Epiteelirakk

MLE-12 rakud | 305314

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation MLE-12 (Cytioni katalooginumbr 305314)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3751

GMO Status GMO-S1: See hiirte kopsuepiteelirakuliini (MLE-12) sisaldab transfektsiooni teel sissetoodud SV40 T-antigeeni konstruktsiooni, mis toetab primaarsete kopsuepiteelirakkude immortaliseerimist. Insert on stabiilselt integreeritud. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression Ekspresseeritud geenid: kopsu pindaktiivsed valgud B, C (SP-B, SP-C)

Tumorigenic Jah, alasti hiirtel

Viruses Transformant: simian virus 40 (SV40)

Töötlemine

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

MLE-12 rakud | 305314**Fluid renewal** 2 korda nädalas**Freeze medium**

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialid jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialid kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialid ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

MLE-12 rakud | 305314

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.