

## MLE-12-solut | 305314

## Yleisiä tietoja

## Description

MLE-12 on hiiren keuhkoepiteelisolulinja, joka on muodostettu distaalista hengitysteiden epiteelistä käyttäen siirtogeenisiä hiiriä, jotka ilmentävät simian virus 40:n (SV40) suurta kasvaintigeenia ihmisen surfaktanttiproteiini C:n (SP-C) promoottorin ohjaamana. Tälle solulinjalle on ominaista, että se kykenee säilyttämään tietyt alveolaaristen tyypin II solujen ominaisuudet, kuten surfaktanttiproteiinien SP-B ja SP-C ilmentymisen, jotka ovat ratkaisevia keuhkojen surfaktanttisynteesin ja keuhkojen toiminnan kannalta. MLE-12-soluilla on myös alveolaaristen tyypin II solujen keskeisiä morfologisia piirteitä, kuten mikrovilli ja multivesikulaariset kappaleet, vaikka niistä puuttuukin joitain piirteitä, kuten lamellinmuotoisia kappaleita, myöhemmissä läpikäynneissä.

MLE-12-solulinjaa käytetään laajalti surfaktantin proteiinien säätelyn, erittymisen ja keuhkojen ärsykevasteiden tutkimiseen. Se erittää fosfolipidejä vasteena erilaisille erityistä edistäville aineille, kuten ATP:lle ja forboliestereille, jäljitellen tyypin II alveolisolujen toimintaa. Vaikka tämä erityis on voimakasta varhaisvaiheessa, se vähenee myöhemmissä vaiheissa yhdessä reseptorivälitteisten vasteiden muutosten kanssa. Tämä malli on erityisen arvokas hengitysvaikeusoireyhtymien ja surfaktantin puutosten taustalla olevien mekanismien tutkimisessa. Lisäksi solulinja tarjoaa tietoa keuhkojen karsinogeneesistä, koska se on peräisin SV40-vetoisesta tumorigeneesistä.

MLE-12-solut toimivat välineenä surfaktantin proteiinien prosessointireittien selvittämisessä ja surfaktantin korvaamiseen tarkoitettujen terapeuttisten strategioiden testaamisessa. SP-C:n, alveoliepiteelille ominaisen merkkiaineen, ilmentymisen ylläpitäminen tekee niistä relevantin in vitro -mallin keuhkospesifisten prosessien ja sairauksien tutkimiseen.

## Organism

Hiiri

## Tissue

Keuhkot

## Disease

Normaali

## Synonyms

MLE 12, MLE12, Murine Lung Epithelial-12, hiiren keuhkoepiteeli-12

## Ominaisuudet

## Breed/Subspecies

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

## Age

5 kuukautta

## Gender

Nainen

## Morphology

Epiteelin kaltainen

## Cell type

Epiteelisolu

## MLE-12-solut | 305314

**Growth properties** Tarttuva

## Säätelytiedot

**Citation** MLE-12 (Cytionin luettelonumero 305314)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_3751

**GMO Status** GMO-S1: Tämä hiiren keuhkoepiteelisolulinja (MLE-12) sisältää SV40 T-Antigeenikonstruktiota, joka on tuotu transfektion avulla ja tukee primaaristen keuhkoepiteelisolujen kuolemattomuutta. Insertti on vakaasti integroitunut. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

## Biomolekyyli tiedot

**Protein expression** Ilmaistut geenit: keuhkojen surfaktanttiproteiinit B ja C (SP-B, SP-C)

**Tumorigenic** Kyllä, alastomilla hiirillä

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

## Käsittely

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

**Dissociation Reagent** Accutase

**MLE-12-solut | 305314**

**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

**Fluid renewal** 2 kertaa viikossa

**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

## MLE-12-solut | 305314

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 %<sub>CO2</sub>, kostutettu ilmakehä.

**Flask Coating** Ei mitään

**Freezing Procedure** Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping Conditions** Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage Conditions** Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

**Sterility** Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.