

Cellules MLE-12 | 305314**Informations générales****Description**

MLE-12 est une lignée cellulaire épithéliale pulmonaire murine établie à partir de l'épithélium respiratoire distal à l'aide de souris transgéniques exprimant le grand antigène tumoral du virus simien 40 (SV40) sous le contrôle du promoteur de la protéine humaine du surfactant C (SP-C). Cette lignée cellulaire se caractérise par sa capacité à maintenir certaines propriétés des cellules alvéolaires de type II, telles que l'expression des protéines du surfactant SP-B et SP-C, qui sont cruciales pour la synthèse du surfactant pulmonaire et la fonction pulmonaire. Les cellules MLE-12 présentent également des caractéristiques morphologiques clés des cellules alvéolaires de type II, notamment des microvillosités et des corps multivésiculaires, bien qu'elles manquent de certaines caractéristiques comme les corps lamellaires dans les passages ultérieurs.

La lignée cellulaire MLE-12 est largement utilisée pour étudier la régulation et la sécrétion des protéines du surfactant, ainsi que les réponses pulmonaires aux stimuli. Elle sécrète des phospholipides en réponse à divers sécrétagogues tels que l'ATP et les esters de phorbol, reproduisant ainsi certains aspects de la fonction des cellules alvéolaires de type II. Alors que cette sécrétion est robuste dans les premiers passages, elle diminue dans les passages ultérieurs, parallèlement à des changements dans les réponses médiées par les récepteurs. Ce modèle est particulièrement utile pour explorer les mécanismes qui sous-tendent les syndromes de détresse respiratoire et les déficiences en surfactant. En outre, la lignée cellulaire permet de mieux comprendre la carcinogenèse pulmonaire, étant donné qu'elle est dérivée d'une tumorigenèse induite par le SV40.

Les cellules MLE-12 servent d'outil pour élucider les voies de transformation des protéines du surfactant et tester des stratégies thérapeutiques pour le remplacement du surfactant. Leur maintien de l'expression du SP-C, un marqueur spécifique de l'épithélium alvéolaire, en fait un modèle in vitro pertinent pour l'étude des processus et des maladies spécifiques du poumon.

Organism

Souris

Tissue

Poumon

Disease

Normal

Synonyms

MLE 12, MLE12, épithélium pulmonaire murin-12

Caractéristiques**Breed/Subspecies**

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

Age

5 mois

Gender

Femme

Morphology

De type épithélial

Cell type

Cellule épithéliale

Cellules MLE-12 | 305314**Growth properties**

Adhérent

Données réglementaires**Citation** MLE-12 (numéro de catalogue Cytion 305314)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_3751

GMO Status OGM-S1 : Cette lignée de cellules épithéliales pulmonaires murines (MLE-12) contient une construction SV40 T-Antigen introduite par transfection, permettant l'immortalisation de cellules épithéliales pulmonaires primaires. L'insert est intégré de manière stable. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut différer dans d'autres pays.

Données biomoléculaires

Protein expression Gènes exprimés : protéines B et C du surfactant pulmonaire (SP-B, SP-C)

Tumorigenic Oui, sur des souris nues

Viruses Transformant : virus simien 40 (SV40)

Manipulation

Culture Medium DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO₃, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)

Supplements Compléter le milieu avec 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Cellules MLE-12 | 305314

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Split ratio Un rapport de 1:5 à 1:10 est recommandé

Fluid renewal 2 fois par semaine

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Cellules MLE-12 | 305314

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules MLE-12 | 305314

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.