

## MLE-12 sejtek | 305314

## Általános információk

## Description

Az MLE-12 egy egér tüdőhámsejtvonal, amelyet a disztális légúti epitéliumból hoztak létre transzgenikus egerek segítségével, és amely a 40-es simian vírus (SV40) nagy tumorantigént expresszálja a humán surfactant protein C (SP-C) promóterének irányítása alatt. Ezt a sejtvonalat az jellemzi, hogy képes fenntartani az alveoláris II. típusú sejtek bizonyos tulajdonságait, mint például a surfactant fehérjék SP-B és SP-C expresszióját, amelyek döntő fontosságúak a tüdő surfactant szintéziséhez és a tüdőfunkcióhoz. Az MLE-12 sejtek az alveoláris II. típusú sejtek kulcsfontosságú morfológiai jellemzőit is mutatják, beleértve a mikrovillákat és a multivezikuláris testeket, bár a későbbi passzázsokban hiányoznak belőlük bizonyos jellemzők, mint például a lamelláris testek.

Az MLE-12 sejtvonalat széles körben használják a surfaktáns fehérje szabályozásának, szekréciójának és a tüdő ingerekre adott válaszainak tanulmányozására. Foszfolipideket választ ki különböző szekretagókokra, például ATP-re és forbol-észterekre, utánozva a II. típusú alveoláris sejtek működésének aspektusait. Míg ez a szekréció a korai passzázsokban erőteljes, a későbbi passzázsokban csökken, a receptorok által közvetített válaszok változásaival együtt. Ez a modell különösen értékes a légzési distressz szindrómák és a surfaktánshiány hátterében álló mechanizmusok feltárására. Ezenkívül a sejtvonal betekintést nyújt a pulmonális karcinogenezisbe is, mivel SV40 által vezérelt tumorigenezisből származik.

Az MLE-12 sejtek eszközként szolgálnak a surfaktáns fehérje feldolgozásának útvonalainak feltárásához és a surfaktáns pótlására irányuló terápiás stratégiák teszteléséhez. Az alveoláris epitheliumra specifikus marker, az SP-C expressziójának fenntartása releváns in vitro modellé teszi őket a tüdőspecifikus folyamatok és betegségek vizsgálatára.

**Organism** Egér

**Tissue** Tüdő

**Disease** Normál

**Synonyms** MLE 12, MLE12, Murine Lung Epithelial-12, gyomor-tüdő epiteliális-12

## Jellemzők

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

**Age** 5 hónap

**Gender** Női

**Morphology** Epithelszerű

**Cell type** Epithelsejt

**MLE-12 sejtek | 305314**

**Growth properties** Adherent

**Szabályozási adatok**

**Citation** MLE-12 (Cytion katalógusszám: 305314)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_3751

**GMO Status** GMO-S1: Ez az egér tüdőhámsejtvonal (MLE-12) transzfekcióval bevitt SV40 T-antigén konstrukciót tartalmaz, amely támogatja a primer tüdőhámsejtek immortalizációját. Az inzert stabilan integrálódik. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.

**Biomolekuláris adatok**

**Protein expression** Kifejezett gének: tüdő surfactant fehérjék B, C (SP-B, SP-C)

**Tumorigenic** Igen, meztelen egerekben

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

**A kezelése**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)

**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

**Dissociation Reagent** Accutase

**MLE-12 sejtek | 305314****Subculturing**

Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

**Fluid renewal**

hetente 2 alkalommal

**Freeze medium**

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

## MLE-12 sejtek | 305314

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

**Flask Coating** Nincs

**Freezing Procedure** A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping Conditions** A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Storage Conditions** Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

**Sterility** A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.