

Cellule MLE-12 | 305314

Informazioni generali

Description

MLE-12 è una linea cellulare epiteliale polmonare murina ottenuta dall'epitelio respiratorio distale di topi transgenici che esprimono il grande antigene tumorale del virus simiano 40 (SV40) sotto il controllo del promotore della proteina surfattante C (SP-C) umana. Questa linea cellulare è caratterizzata dalla capacità di mantenere alcune proprietà delle cellule alveolari di tipo II, come l'espressione delle proteine surfattanti SP-B e SP-C, fondamentali per la sintesi del surfattante polmonare e la funzione polmonare. Le cellule MLE-12 mostrano anche caratteristiche morfologiche chiave delle cellule alveolari di tipo II, tra cui microvilli e corpi multivescicolari, anche se mancano alcune caratteristiche come i corpi lamellari nei passaggi successivi.

La linea cellulare MLE-12 è ampiamente utilizzata per studiare la regolazione delle proteine del surfattante, la secrezione e le risposte polmonari agli stimoli. Secerne fosfolipidi in risposta a vari secretagoghi come ATP e esteri di forbole, imitando gli aspetti della funzione delle cellule alveolari di tipo II. Mentre questa secrezione è robusta nei primi passaggi, diminuisce nei passaggi successivi, insieme a cambiamenti nelle risposte mediate dai recettori. Questo modello è particolarmente prezioso per esplorare i meccanismi alla base delle sindromi da distress respiratorio e delle carenze di surfattante. Inoltre, la linea cellulare offre spunti di riflessione sulla carcinogenesi polmonare, data la sua derivazione dalla tumorigenesi guidata da SV40.

Le cellule MLE-12 sono uno strumento per chiarire le vie di elaborazione delle proteine del surfattante e per testare strategie terapeutiche per la sostituzione del surfattante. Il mantenimento dell'espressione di SP-C, un marcatore specifico dell'epitelio alveolare, le rende un modello in vitro importante per studiare processi e malattie specifici del polmone.

Organism

Mouse

Tissue

Polmone

Disease

Normale

Synonyms

MLE 12, MLE12, Epitelio polmonare murino-12

Caratteristiche

Breed/Subspecies

FVB/N-Tg(SFTPC-TAg)5.1Mascella transgenica

Age

5 mesi

Gender

Donna

Morphology

Simile all'epitelio

Cell type

Cellula epiteliale

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

Aderente

Dati normativi**Citation** MLE-12 (numero di catalogo Cytion 305314)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_3751

GMO Status GMO-S1: Questa linea cellulare epiteliale polmonare murina (MLE-12) contiene un costrutto di T-antigene SV40 introdotto tramite trasfezione, che supporta l'immortalizzazione di cellule epiteliali polmonari primarie. L'inserto è integrato in modo stabile. Questa classificazione si applica solo in Germania e può differire altrove.

Dati biomolecolari

Protein expression Geni espressi: proteine del surfattante polmonare B, C (SP-B, SP-C)

Tumorigenic Sì, in topi nudi

Viruses Trasformante: Simian virus 40 (SV40)

Manipolazione

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)

Supplements Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

Dissociation Reagent Accutase

Cellule MLE-12 | 305314

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Split ratio Si consiglia un rapporto da 1:5 a 1:10

Fluid renewal 2 volte a settimana

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongellamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Cellule MLE-12 | 305314

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating Nessuno

Freezing Procedure Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.