

MLE-12 ląstelės | 305314

Bendra informacija

Description

MLE-12 yra pelių plaučių epitelio ląstelių linija, sukurta iš distalinio kvėpavimo takų epitelio, naudojant transgeninių pelių, ekspresuojančių didžiojo naviko antigeną, kontroliuojamą žmogaus paviršiaus aktyviojo baltymo C (SP-C) promotoriaus. Šiai ląstelių linijai būdingas gebėjimas išlaikyti tam tikras II tipo alveolinių ląstelių savybes, pavyzdžiui, paviršinio aktyvumo baltymų SP-B ir SP-C, kurie yra labai svarbūs plaučių paviršinio aktyvumo sintezei ir plaučių funkcijai, raišką. MLE-12 ląstelėms taip pat būdingos pagrindinės II tipo alveolinių ląstelių morfologinės savybės, įskaitant mikrovilių ir daugialąsčių kūnelių, nors vėlesniuose etapuose jos neturi kai kurių savybių, pavyzdžiui, plokštelių kūnelių.

MLE-12 ląstelių linija plačiai naudojama paviršinio aktyvumo baltymo reguliacijai, sekrecijai ir plaučių reakcijai į dirgiklius tirti. Ji išskiria fosfolipidus, reaguodama į įvairius sekretoagus, tokius kaip ATP ir forbolio esteriai, ir taip imituoja II tipo alveolinių ląstelių funkciją. Nors ši sekrecija yra stipri ankstyvosiose stadijose, vėlesnėse stadijose ji mažėja, kartu su receptorių tarpininkaujamų reakcijų pokyčiais. Šis modelis yra ypač vertingas tiriant mechanizmus, kuriais grindžiami kvėpavimo distreso sindromai ir paviršinio aktyvumo medžiagų trūkumas. Be to, ši ląstelių linija suteikia galimybę susipažinti su plaučių kancerogeneze, nes ji yra kilusi iš SV40 sukkelto naviko.

MLE-12 ląstelės yra įrankis, padedantis išsiaiškinti paviršinio aktyvumo baltymo apdoravimo būdus ir išbandyti terapines paviršinio aktyvumo baltymo pakeitimo strategijas. Dėl to, kad šios ląstelės išlaiko alveoliniam epiteliumi būdingą SP-C raišką, jos yra tinkamas in vitro modelis plaučių specifiniams procesams ir ligoms tirti.

Organism Pelė

Tissue Plaučiai

Disease Normalus

Synonyms MLE 12, MLE12, Murine Lung Epithelial-12

Charakteristikos

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

Age 5 mėnesiai

Gender Moteris

Morphology Į epitelį panašus

Cell type Epitelinė ląstelė

MLE-12 ląstelės | 305314

Growth properties

Prigluoęs

Reguliavimo duomenys

Citation MLE-12 (Cytion katalogo numeris 305314)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3751**GMO Status** GMO-S1: Šioje pelių plaučių epitelio ląstelių linijoje (MLE-12) yra transfekcijos būdu įvestas SV40 T-antigeno konstruktas, padedantis imortalizuoti pirmines plaučių epitelio ląsteles. Įdėklas yra stabiliai integruotas. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression Išreikšti genai: plaučių surfaktantiniai baltymai B, C (SP-B, SP-C)**Tumorigenic** Taip, su nuogomis pelėmis**Viruses** Transformantas: Simiano virusas 40 (SV40)

Tvarkymas

Culture Medium DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

MLE-12 ląstelės | 305314**Fluid renewal** 2 kartus per savaitę**Freeze medium**

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliumi.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere 37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.**Flask Coating**

Nėra

MLE-12 ląstelės | 305314

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.