

MLE-12 šūnas | 305314

Vispārīga informācija

Description

MLE-12 ir peļu plaušu epitēlija šūnu līnija, kas izveidota no distālā elpceļu epitēlija, izmantojot transgēnas peles, kas ekspresē simpātiskā vīrusa 40 (SV40) lielo audzēja antigēnu, ko kontrolē cilvēka virsmaktanta proteīna C (SP-C) promotors. Šai šūnu līnijai ir raksturīga spēja saglabāt noteiktas II tipa alveolāro šūnu īpašības, piemēram, virsmaktanta proteīnu SP-B un SP-C ekspresiju, kas ir būtiski svarīgi plaušu virsmaktanta sintēzei un plaušu funkcijai. MLE-12 šūnām piemīt arī galvenās II tipa alveolāro šūnu morfoloģiskās pazīmes, tostarp mikrovilas un multivesikulārie ķermeņi, lai gan vēlākajās pasāžās tām trūkst dažu pazīmju, piemēram, lamelāro ķermeņu.

MLE-12 šūnu līniju plaši izmanto, lai pētītu virsmaktanta proteīnu regulāciju, sekrēciju un plaušu reakciju uz stimuliem. Tā izdala fosfolipīdus, reaģējot uz dažādiem sekretagogēniem, piemēram, ATP un fosfora esteriem, tādējādi imitējot II tipa alveolāro šūnu funkcijas aspektus. Lai gan šī sekrēcija ir spēcīga agrīnā stadijā, vēlākajās stadijās tā samazinās, kā arī mainās receptoru mediētās atbildes reakcijas. Šis modelis ir īpaši vērtīgs, lai izpētītu mehānismus, kas ir elpošanas distresa sindromu un virsmaktanta deficīta pamatā. Turklāt šī šūnu līnija piedāvā ieskatu plaušu kancerogēnāzē, ņemot vērā, ka tā ir atvasināta no SV40 izraisītas audzēju veidošanās.

MLE-12 šūnas kalpo kā instruments, lai noskaidrotu virsmaktanta proteīnu apstrādes ceļus un pārbaudītu terapeitiskās stratēģijas virsmaktanta aizstāšanai. To uzturētā SP-C ekspresija, kas ir alveolārajam epitēlijam raksturīgs marķieris, padara tās par piemērotu in vitro modeli plaušu specifisku procesu un slimību izpētei.

Organism Pele

Tissue Plaušas

Disease Parasts

Synonyms MLE 12, MLE12, Murine Lung Epithelial-12

Raksturojums

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

Age 5 mēneši

Gender Sievietes

Morphology Epitēlijveidīgs

Cell type Epitēlija šūna

Growth properties Adherent

MLE-12 šūnas | 305314

Normatīvie dati

| | |
|-----------------------------|--|
| Citation | MLE-12 (Cytion kataloga numurs 305314) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 9606 |
| CellosaurusAccession | CVCL_3751 |
| GMO Status | GMO-S1: Šī peļu plaušu epitēlija šūnu līnija (MLE-12) satur SV40 T-antigēnu, kas ieviests ar transfekcijas palīdzību, un atbalsta primāro plaušu epitēlija šūnu imortalizāciju. Inserts ir stabili integrēts. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur. |

Biomolekulārie dati

| | |
|---------------------------|--|
| Protein expression | Izteiktie gēni: plaušu virsmaktanta proteīni B, C (SP-B, SP-C) |
| Tumorigenic | Jā, kailām pelēm |
| Viruses | Transformants: Sīmiāna vīruss 40 (SV40) |

Darbs ar

| | |
|-----------------------------|---|
| Culture Medium | DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a) |
| Supplements | Papildināt barotni ar 10% FBS |
| Dissociation Reagent | Accutase |
| Subculturing | Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne. |
| Fluid renewal | 2 reizes nedēļā |

MLE-12 šūnas | 305314**Freeze medium**

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar $300 \times g$ 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

MLE-12 šūnas | 305314

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.