

## MLE-12 Cellen | 305314

## Algemene informatie

## Description

MLE-12 is een muizen longepitheelcellijn die is gemaakt van distaal respiratoir epitheel met behulp van transgene muizen die het simian virus 40 (SV40) large tumor antigen tot expressie brengen onder controle van de menselijke surfactant proteïne C (SP-C) promotor. Deze cellijn wordt gekenmerkt door zijn vermogen om bepaalde eigenschappen van alveolaire type II cellen te behouden, zoals de expressie van de surfactant eiwitten SP-B en SP-C, die cruciaal zijn voor de synthese van long surfactant en de longfunctie. MLE-12 cellen vertonen ook belangrijke morfologische kenmerken van alveolaire type II cellen, waaronder microvilli en multivesiculaire lichamen, hoewel ze sommige kenmerken zoals lamellaire lichamen in latere passages missen.

De MLE-12 cellijn wordt veel gebruikt om de regulatie van surfactant eiwitten, secretie en pulmonale reacties op stimuli te bestuderen. Ze scheidt fosfolipiden af in reactie op verschillende secretogenen zoals ATP en phorbol esters, waarbij aspecten van de type II alveolaire celfunctie worden nagebootst. Terwijl deze secretie robuust is in vroege passages, vermindert deze in latere passages, samen met veranderingen in receptorgemedieerde reacties. Dit model is met name waardevol voor het onderzoeken van mechanismen die ten grondslag liggen aan respiratoire distress syndromen en surfactant deficiënties. Daarnaast biedt de cellijn inzicht in pulmonale carcinogenese, gezien de afleiding van SV40-gestuurde tumorigenese.

MLE-12 cellen dienen als hulpmiddel voor het ophelderen van de paden van de verwerking van surfactant eiwitten en het testen van therapeutische strategieën voor de vervanging van surfactant. Door het behoud van SP-C expressie, een marker die specifiek is voor het alveolaire epitheel, zijn ze een relevant in vitro model voor het onderzoeken van longspecifieke processen en ziekten.

**Organism** Muis

**Tissue** Long

**Disease** Normaal

**Synonyms** MLE 12, MLE12, Muriene long epitheel-12

## Kenmerken

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

**Age** 5 maanden

**Gender** Vrouw

**Morphology** Epitheelachtig

**Cell type** Epitheelcel

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

Aanhangend

**Regelgevende gegevens****Citation** MLE-12 (Cytion catalogusnummer 305314)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_3751**GMO Status** GMO-S1: Deze muriene longepitheelcellijn (MLE-12) bevat een SV40 T-antigeen construct geïntroduceerd via transfectie, ter ondersteuning van immortalisatie van primaire longepitheelcellen. Het insert is stabiel geïntegreerd. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders afwijken.**Biomoleculaire gegevens****Protein expression** Tot expressie komende genen: long surfactant proteïnen B, C (SP-B, SP-C)**Tumorigenic** Ja, in naakte muizen**Viruses** Transformant: Simian virus 40 (SV40)**Omgaan met****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

## MLE-12 Cellen | 305314

**Split ratio** Een verhouding van 1:5 tot 1:10 wordt aanbevolen

**Fluid renewal** 2 keer per week

**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

### Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij  $300 \times g$  om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

**Incubation Atmosphere**  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , bevochtigde atmosfeer.

**Flask Coating** Geen

## MLE-12 Cellen | 305314

### Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

### Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

### Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

## Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

### Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.