

MLE-12-celler | 305314

Generell informasjon

Description

MLE-12 er en murin lungeepitelcellelinje som er etablert fra distalt respiratorisk epitel ved hjelp av transgene mus som uttrykker det store tumorantigenet fra simian virus 40 (SV40) under kontroll av det humane surfaktantprotein C (SP-C)-promotoren. Denne cellelinjen kjennetegnes ved sin evne til å opprettholde visse egenskaper ved alveolære type II-celler, som for eksempel uttrykket av surfaktantproteinene SP-B og SP-C, som er avgjørende for syntese av surfaktant i lungene og lungefunksjon. MLE-12-celler viser også viktige morfologiske trekk ved alveolære type II-celler, blant annet mikrovilli og multivesikulære legemer, selv om de mangler enkelte trekk som lamellære legemer i senere passasjer.

MLE-12-cellelinjen er mye brukt til å studere regulering av surfaktantproteiner, utskillelse og pulmonal respons på stimuli. Den skiller ut fosfolipider som respons på ulike sekretagoger som ATP og phorbolestere, noe som etterligner aspekter ved type II-alveolære cellers funksjon. Mens denne utskillelsen er robust i de tidlige stadiene, avtar den i senere stadier, sammen med endringer i reseptormedierte responser. Denne modellen er spesielt verdifull når det gjelder å utforske mekanismene som ligger til grunn for luftveissyndromer og mangel på surfaktant. I tillegg gir cellelinjen innsikt i lungekarsinogenese, siden den stammer fra SV40-drevet tumorigenese.

MLE-12-celler er et verktøy for å belyse prosessering av surfaktantproteiner og teste terapeutiske strategier for erstatning av surfaktant. At de opprettholder SP-C-uttrykk, en markør som er spesifikk for det alveolære epitelet, gjør dem til en relevant in vitro-modell for å undersøke lungespesifikke prosesser og sykdommer.

Organism

Mus

Tissue

Lunge

Disease

Normal

Synonyms

MLE 12, MLE12, Murine Lung Epithelial-12

Kjennetegn

Breed/Subspecies

FVB/N-Tg(SFTPC-TAg)5.1Jaw transgen

Age

5 måneder

Gender

Kvinne

Morphology

Epitel-lignende

Cell type

Epitelcelle

MLE-12-celler | 305314

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation MLE-12 (Cytion-katalognummer 305314)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_3751**GMO Status** GMO-S1: Denne murine lungeepitelcellelinjen (MLE-12) inneholder en SV40 T-antigenkonstruksjon som er introdusert via transfeksjon, og som støtter udødeliggjøring av primære lungeepitelceller. Innsettet er stabilt integrert. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Protein expression Gener uttrykt: Lungesurfaktantproteiner B, C (SP-B, SP-C)**Tumorigenic** Ja, i nakne mus**Viruses** Transformant: Simian virus 40 (SV40)

Håndtering

Culture Medium DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

MLE-12-celler | 305314**Split ratio** Et forhold på 1:5 til 1:10 anbefales**Fluid renewal** 2 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.**Thawing and
Culturing Cells**

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

**Incubation
Atmosphere** 37 °C, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.**Flask Coating** Ingen

MLE-12-celler | 305314

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.