

**Komórki MLE-12 | 305314****Informacje ogólne****Description**

MLE-12 to mysia linia komórek nabłonka płuc utworzona z dystalnego nabłonka oddechowego przy użyciu transgenicznego myszy wyrażających duży antygen nowotworowy wirusa simian virus 40 (SV40) pod kontrolą promotora ludzkiego białka surfaktantu C (SP-C). Ta linia komórkowa charakteryzuje się zdolnością do utrzymywania pewnych właściwości komórek pęcherzykowych typu II, takich jak ekspresja białek surfaktantu SP-B i SP-C, które są kluczowe dla syntezy surfaktantu płucnego i funkcji płuc. Komórki MLE-12 wykazują również kluczowe cechy morfologiczne komórek pęcherzykowych typu II, w tym mikrokosmki i ciątka wielopęcherzykowe, choć w późniejszych pasażach brakuje im niektórych cech, takich jak ciątka blaszkowate.

Linia komórkowa MLE-12 jest szeroko stosowana do badania regulacji białek surfaktantu, wydzielania i odpowiedzi płuc na bodźce. Wydziela fosfolipidy w odpowiedzi na różne czynniki pobudzające wydzielanie, takie jak ATP i estry forbolu, naśladując aspekty funkcji komórek pęcherzykowych typu II. Podczas gdy wydzielanie to jest silne we wczesnych pasażach, zmniejsza się w późniejszych pasażach, wraz ze zmianami w odpowiedziach za pośrednictwem receptorów. Model ten jest szczególnie cenny do badania mechanizmów leżących u podstaw zespołów niewydolności oddechowej i niedoborów surfaktantu. Ponadto linia komórkowa oferuje wgląd w kancerogenezę płucną, biorąc pod uwagę jej pochodzenie z nowotworów wywołanych przez SV40.

Komórki MLE-12 służą jako narzędzie do wyjaśnienia szlaków przetwarzania białka surfaktantu i testowania strategii terapeutycznych w celu zastąpienia surfaktantu. Utrzymanie przez nie ekspresji SP-C, markera specyficznego dla nabłonka pęcherzyków płucnych, czyni je odpowiednim modelem in vitro do badania procesów i chorób specyficznych dla płuc.

**Organism**

Mysz

**Tissue**

Płuco

**Disease**

Normalny

**Synonyms**

MLE 12, MLE12, Murine Lung Epithelial-12

**Charakterystyka****Breed/Subspecies**

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

**Age**

5 miesięcy

**Gender**

Kobieta

**Morphology**

Podobny do nabłonka

**Cell type**

Komórka nabłonkowa

**Komórki MLE-12 | 305314**

**Growth properties** Adherent

**Dane regulacyjne**

**Citation** MLE-12 (numer katalogowy Cytion 305314)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_3751

**GMO Status** GMO-S1: Ta mysia linia komórek nabłonka płuc (MLE-12) zawiera konstrukt antygenu SV40 T wprowadzony poprzez transfekcję, wspomagający immortalizację pierwotnych komórek nabłonka płuc. Wstawka jest stabilnie zintegrowana. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.

**Dane biomolekularne**

**Protein expression** Wyrażane geny: białka surfaktantu płucnego B, C (SP-B, SP-C)

**Tumorigenic** Tak, u nagich myszy

**Viruses** Transformant: Simian virus 40 (SV40)

**Obsługa**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)

**Supplements** Uzuppełnić podłoże 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Komórki MLE-12 | 305314**

**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:5 do 1:10

**Fluid renewal** 2 razy w tygodniu

**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

## Komórki MLE-12 | 305314

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5%<sub>CO2</sub>, nawilżona atmosfera.

**Flask Coating** Brak

**Freezing Procedure** Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Shipping Conditions** Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage Conditions** W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

**Sterility** Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.