

**Celule MLE-12 | 305314****Informații generale****Description**

MLE-12 este o linie celulară epitelială pulmonară murină obținută din epiteliul respirator distal folosind șoareci transgenici care exprimă antigenul tumoral mare al virusului simian 40 (SV40) sub controlul promotorului proteinei umane surfactant C (SP-C). Această linie celulară se caracterizează prin capacitatea sa de a menține anumite proprietăți ale celulelor alveolare de tip II, cum ar fi expresia proteinelor surfactante SP-B și SP-C, care sunt esențiale pentru sinteza surfactantului pulmonar și funcția pulmonară. Celulele MLE-12 prezintă, de asemenea, caracteristici morfologice cheie ale celulelor alveolare de tip II, inclusiv microvilli și corpuri multivesiculare, deși le lipsesc anumite caracteristici, cum ar fi corpurile lamelare, în pasajele ulterioare.

Linia celulară MLE-12 este utilizată pe scară largă pentru a studia reglarea proteinei surfactante, secreția și răspunsurile pulmonare la stimuli. Aceasta secretă fosfolipide ca răspuns la diferiți secretagogi, cum ar fi ATP și esteri de forbol, imitând aspecte ale funcției celulelor alveolare de tip II. În timp ce această secreție este robustă în pasajele timpurii, ea scade în pasajele ulterioare, împreună cu modificările răspunsurilor mediate de receptori. Acest model este deosebit de valoros pentru explorarea mecanismelor care stau la baza sindroamelor de detresă respiratorie și a deficiențelor de surfactant. În plus, linia celulară oferă perspective asupra carcinogenezei pulmonare, având în vedere derivarea sa din tumorogeneza determinată de SV40.

Celulele MLE-12 servesc drept instrument pentru elucidarea căilor de procesare a proteinelor surfactantului și testarea strategiilor terapeutice pentru înlocuirea surfactantului. Menținerea expresiei SP-C, un marker specific epiteliului alveolar, face din ele un model in vitro relevant pentru investigarea proceselor și bolilor specifice plămânilor.

**Organism** Șoarece**Tissue** Plămân**Disease** Normal**Synonyms** MLE 12, MLE12, Epiteliul pulmonar murin-12**Caracteristici****Breed/Subspecies** FVB/N-Tg(SFTPC-TAg)5.1Jaw transgenic**Age** 5 luni**Gender** Femei**Morphology** De tip epitelial**Cell type** Celulă epitelială

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

Aderent

**Date de reglementare****Citation** MLE-12 (număr de catalog Cytion 305314)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_3751

**GMO Status** OMG-S1: Această linie de celule epiteliale pulmonare murine (MLE-12) conține o construcție de antigen T SV40 introdusă prin transfecție, care susține imortalizarea celulelor epiteliale pulmonare primare. Inserția este integrată stabil. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte părți.

**Date biomoleculare**

**Protein expression** Genuri exprimate: proteine pulmonare surfactante B, C (SP-B, SP-C)

**Tumorigenic** Da, la șoareci nude

**Viruses** Transformant: virusul simian 40 (SV40)

**Manipulare**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)

**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.

## Celule MLE-12 | 305314

**Fluid renewal** de 2 ori pe săptămână

**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , atmosferă umidificată.

**Flask Coating** Niciuna

**Freezing Procedure** Linile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

### Celule MLE-12 | 305314

#### Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

#### Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

### Controlul calității și analiza moleculară

#### Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.