

Bunky MLE-12 | 305314**Všeobecné informácie****Description**

MLE-12 je línia myších pľúcnych epitelových buniek vytvorená z distálneho respiračného epitelu pomocou transgénnych myší, ktoré exprimujú veľký nádorový antigén simílie 40 (SV40) pod kontrolou promotora ľudského surfaktantového proteínu C (SP-C). Táto bunková línia sa vyznačuje schopnosťou zachovať si určité vlastnosti alveolárnych buniek typu II, ako je expresia surfaktantových proteínov SP-B a SP-C, ktoré sú kľúčové pre syntézu pľúcneho surfaktantu a funkciu pľúc. Bunky MLE-12 vykazujú aj kľúčové morfológické znaky alveolárnych buniek typu II vrátane mikrokľvkov a multivesikulárnych teliesok, hoci v neskorších pasážach im chýbajú niektoré znaky, ako sú lamelárne telieska.

Bunková línia MLE-12 sa široko používa na štúdium regulácie surfaktantových proteínov, sekrécie a pľúcnych reakcií na podnety. Vylučuje fosfolipidy v reakcii na rôzne sekretagogy, ako sú ATP a estery fosforu, čím napodobňuje aspekty funkcie alveolárnych buniek typu II. Zatiaľ čo táto sekrécia je silná v skorých štádiách, v neskorších štádiách sa znižuje spolu so zmenami v reakciách sprostredkovaných receptormi. Tento model je obzvlášť cenný na skúmanie mechanizmov, ktoré sú základom syndrómov respiračnej tiesne a nedostatku surfaktantu. Okrem toho táto bunková línia ponúka pohľad na pľúcnu karcinogézu vzhľadom na jej odvodenie od nádorového bujnenia spôsobeného SV40.

Bunky MLE-12 slúžia ako nástroj na objasnenie ciest spracovania proteínov surfaktantu a testovanie terapeutických stratégií na náhradu surfaktantu. Vďaka zachovaniu expresie SP-C, markera špecifického pre alveolárny epitel, sú vhodným in vitro modelom na skúmanie procesov a chorôb špecifických pre pľúca.

Organism

Myš

Tissue

Pľúca

Disease

Normálne

Synonyms

MLE 12, MLE12, Murine Lung Epithelial-12

Charakteristika**Breed/Subspecies**

FVB/N-Tg(SFTPC-TAg)5.1Jaw transgénne

Age

5 mesiacov

Gender

Ženy

Morphology

Epitelu podobné

Cell type

Epitelová bunka

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

Adherent

Regulačné údaje**Citation** MLE-12 (katalógové číslo Cytion 305314)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_3751**GMO Status** GMO-S1: Táto línia myších pľúcnych epitelových buniek (MLE-12) obsahuje konštrukt SV40 T-Antigen zavedený transfekciou, ktorý podporuje imortalizáciu primárnych pľúcnych epitelových buniek. Vložka je stabilne integrovaná. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.**Biomolekulárne údaje****Protein expression** Expresia génov: pľúcne surfaktantové proteíny B, C (SP-B, SP-C)**Tumorigenic** Áno, na nahých myšiach**Viruses** Transformant: Simian virus 40 (SV40)**Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Bunky MLE-12 | 305314

Fluid renewal 2 krát týždenne

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Bunky MLE-12 | 305314

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.