

## Celice MLE-12 | 305314

## Splošne informacije

## Description

MLE-12 je linija mišjih pljučnih epiteljskih celic, ki je nastala iz distalnega dihalnega epitelija z uporabo transgenih miši, ki izražajo veliki tumorski antigen virusa siminija 40 (SV40) pod nadzorom promotora človeškega surfaktantnega proteina C (SP-C). Za to celično linijo je značilno, da ohranja nekatere lastnosti alveolarnih celic tipa II, kot je izražanje surfaktantnih beljakovin SP-B in SP-C, ki sta ključni za sintezo pljučnega surfaktanta in delovanje pljuč. Celice MLE-12 imajo tudi ključne morfološke značilnosti alveolarnih celic tipa II, vključno z mikroviliji in multivesikularnimi telesi, čeprav v kasnejših fazah nimajo nekaterih značilnosti, kot so lamelarna telesa.

Celična linija MLE-12 se pogosto uporablja za preučevanje regulacije in izločanja proteinov surfaktanta ter pljučnih odzivov na dražljaje. Izloča fosfolipide kot odziv na različne sekretagogene snovi, kot sta ATP in fosforjevi estri, kar posnema vidike delovanja alveolarnih celic tipa II. Medtem ko je to izločanje v zgodnjih fazah močno, se v poznejših fazah zmanjša, skupaj s spremembami v odzivih, ki jih posredujejo receptorji. Ta model je še posebej dragocen za raziskovanje mehanizmov, na katerih temeljijo sindromi dihalne stiske in pomanjkanje surfaktanta. Poleg tega celična linija omogoča vpogled v pljučno karcinogenezo, saj izhaja iz tumorogeneze, ki jo povzroča SV40.

Celice MLE-12 služijo kot orodje za razjasnitev poti predelave proteinov surfaktanta in testiranje terapevtskih strategij za nadomeščanje surfaktanta. Zaradi ohranjanja izražanja SP-C, markerja, značilnega za alveolarni epitelij, so pomemben in vitro model za raziskovanje procesov in bolezni, značilnih za pljuča.

**Organism** Miška

**Tissue** Pljuča

**Disease** Normalno

**Synonyms** MLE 12, MLE12, Murine Lung Epithelial-12

## Značilnosti

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

**Age** 5 mesecev

**Gender** Ženske

**Morphology** Epitelijam podobni

**Cell type** Epiteljska celica

**Celice MLE-12 | 305314**

**Growth properties** Pripadajoče

**Regulativni podatki**

**Citation** MLE-12 (katalogška številka Cytion 305314)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_3751

**GMO Status** GSO-S1: Ta linija mišjih pljučnih epiteljskih celic (MLE-12) vsebuje konstrukt SV40 T-Antigen, vnesen s transfekcijo, ki podpira imortalizacijo primarnih pljučnih epiteljskih celic. Vstavek je stabilno integriran. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.

**Biomolekularni podatki**

**Protein expression** Izraženi geni: pljučna surfaktantna proteina B, C (SP-B, SP-C)

**Tumorigenic** Da, na golih miših

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

**Ravnanje s spletno stranjo**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)

**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

**Celice MLE-12 | 305314****Fluid renewal** 2-krat na teden**Freeze medium**

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri  $300 \times g$  3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

**Incubation Atmosphere** $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , vlažno ozračje.**Flask Coating**

Nič

## Celice MLE-12 | 305314

### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Shranjevanje pri  $-80^{\circ}\text{C}$  je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

## Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

### Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.