

Células MLE-12 | 305314**Informações gerais****Description**

A MLE-12 é uma linhagem celular epitelial pulmonar murina estabelecida a partir do epitélio respiratório distal, utilizando camundongos transgênicos que expressam o antígeno tumoral grande do vírus simiano 40 (SV40) sob o controle do promotor da proteína C do surfactante humano (SP-C). Essa linhagem celular é caracterizada por sua capacidade de manter certas propriedades das células alveolares do tipo II, como a expressão das proteínas surfactantes SP-B e SP-C, que são cruciais para a síntese do surfactante pulmonar e a função pulmonar. As células MLE-12 também apresentam características morfológicas-chave das células alveolares do tipo II, incluindo microvilosidades e corpos multivesiculares, embora não apresentem algumas características, como corpos lamelares, em passagens posteriores.

A linhagem celular MLE-12 é amplamente utilizada para estudar a regulação das proteínas do surfactante, sua secreção e as respostas pulmonares a estímulos. Ela secreta fosfolipídios em resposta a vários secretagogos, como o ATP e os ésteres de forbol, imitando aspectos da função das células alveolares do tipo II. Embora essa secreção seja robusta nas primeiras passagens, ela diminui nas passagens posteriores, acompanhada de alterações nas respostas mediadas por receptores. Esse modelo é particularmente valioso para explorar os mecanismos subjacentes às síndromes de dificuldade respiratória e às deficiências de surfactante. Além disso, a linhagem celular oferece insights sobre a carcinogênese pulmonar, dada sua origem na tumorigênese induzida pelo SV40.

As células MLE-12 servem como ferramenta para elucidar as vias de processamento das proteínas do surfactante e testar estratégias terapêuticas para a reposição do surfactante. A manutenção da expressão de SP-C, um marcador específico do epitélio alveolar, torna-as um modelo in vitro relevante para a investigação de processos e doenças específicas do pulmão.

Organism Mouse**Tissue** Pulmão**Disease** Normal**Synonyms** MLE 12, MLE12, Epitélio Pulmonar Murino-12**Características****Breed/Subspecies** FVB/N-Tg(SFTPC-TAg)5.1Jaw transgênico**Age** 5 meses**Gender** Mulher**Morphology** De tipo epitelial**Cell type** Célula epitelial

Células MLE-12 | 305314

Growth properties Aderente

Dados regulatórios

Citation MLE-12 (número de catálogo da Cytion 305314)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3751

GMO Status GMO-S1: Esta linhagem de células epiteliais pulmonares murinas (MLE-12) contém uma construção do antígeno T do SV40 introduzida por meio de transfecção, o que permite a imortalização de células epiteliais pulmonares primárias. A inserção está integrada de forma estável. Esta classificação se aplica apenas na Alemanha e pode diferir em outros países.

Dados biomoleculares

Protein expression Genes expressos: proteínas B e C do surfactante pulmonar (SP-B, SP-C)

Tumorigenic Sim, em camundongos nude

Viruses Transformante: Vírus simiano 40 (SV40)

Manuseio

Culture Medium DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO₃, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)

Supplements Adicione 10% de FBS ao meio

Dissociation Reagent Accutase

Células MLE-12 | 305314

Subculturing Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

Fluid renewal 2 vezes por semana

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Células MLE-12 | 305314

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. O armazenamento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.