

Клетки M-1 | 305261

Обща информация

Description

Клетъчната линия M-1 е добре характеризирани епителен модел, получен от бъбрека на трансгенна възрастна мишка. По-конкретно, клетките M-1 произхождат от кортикалния епител на събирателния канал и запазват много диференцирани характеристики на този сегмент на нефрона. Тези клетки експресират маркери, типични за клетките на кортикалния събирателен канал, включително епителни натриеви канали (ENaC), аквапорини и протеини на тесните съединения, което ги прави широко използван *in vitro* модел за бъбречна физиология, йонен транспорт и изследвания на полярността на епитела.

Функционално M-1 клетките показват високо трансепителиално съпротивление и векторни свойства на йонния транспорт, които са от решаващо значение за изучаване на регулираната от алдостерона натриева реабсорбция и медиацията на вазопресина воден транспорт. Според фундаменталната характеристика на Stoos et al. клетките M-1 образуват поляризирано монослоеве върху пропускливи носители и показват подходяща реакция към хормонални стимули, като например дексаметазон и алдостерон, които регулират експресията и активността на транспортните протеини. Тези характеристики правят M-1 клетките особено ценни за изследване на механизмите на работа с електролити и клетъчната сигнализация в бъбречните епителни клетки.

Освен това клетките M-1 са валидирани в по-нови проучвания, включително генетично удостоверяване чрез STR профилиране за миши клетъчни линии. Това подчертава тяхната постоянна значимост и надеждност в съвременните изследвания на бъбречната физиология. Способността им да пресъздават поведение, подобно на това *in vivo*, при контролирани условия ги е утвърдила като стандарт в изследванията на епителната функция, нефротоксичността и моделирането на бъбречни заболявания.

Organism Мишка

Tissue Бъбрек, кортикален събирателен канал

Synonyms M1-CCD

Характеристики

Breed/Subspecies Tg(SV40E)Bri/7 трансгенни

Age Неуточнено

Gender Неуточнено

Morphology Епителиален

Growth properties Придържащи се

Клетки M-1 | 305261

Регулаторни данни

Citation	M-1 (каталожен номер 305261 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_8786
GMO Status	GMO-S1: Тази клетъчна линия на миши събирателни канали (M-1) съдържа ранния регион на SV40 от трансгенна миша линия (Tg(SV40E)Bri7), която поддържа стабилна имортализация. Конструкцията е ендогенно интегрирана в трансгенния фон. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Viruses	Симиански вирус 40 (SV40)
----------------	---------------------------

Работа с

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (номер на изделието на Cytion 820400a)
Supplements	Допълнете средата с 5% FBS, 5 µM дексаметазон
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки M-1 | 305261

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки M-1 | 305261

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.