

M-1 rakud | 305261

Üldine teave

Description

M-1 rakuliin on hästi iseloomustatud epiteelimudel, mis on saadud transgeense täiskasvanud hiire neerust. M-1 rakud pärinevad eelkõige kortikaalsest kogumiskanali epiteelist ja säilitavad paljud selle nefriinsegmendi diferentseeritud tunnused. Need rakud ekspresseerivad kortikaalse kogumisjuha rakkudele iseloomulikke markereid, sealhulgas epiteeli naatriumkanaleid (ENaC), akvaporiooni ja tiheda ühenduskoha valke, mistõttu on nad laialdaselt kasutatav in vitro mudel neerufüsioloogia, ionitranspordi ja epiteeli polaarsuse uurimiseks.

Funktsionaalselt on M-1 rakkudel kõrge transepiteliaalne resistentsus ja vektoriaalse ionitranspordi omadused, mis on kriitilise tähtsusega aldosterooni poolt reguleeritud naatriumi reabsorptsiooni ja vasopressiini poolt vahendatud veetranspordi uurimiseks. Vastavalt Stoos jt. põhilisele iseloomustusele moodustavad M-1 rakud läbilaskvatel kandjatel polariseeritud monokihid ja näitavad sobivat reageerimist hormonaalsetele stiimulitele, nagu deksametasoon ja aldosteroon, mis reguleerivad transpordivalgu ekspressiooni ja aktiivsust. Need omadused muudavad M-1 rakud eriti väärtuslikuks neeruepiteelirakkude elektrolüütide käitlemise ja rakusignalisatsiooni mehhanismide uurimiseks.

Lisaks sellele on M-1 rakud valideeritud uuemates uuringutes, sealhulgas geneetiline autentimine hiire rakuliinide STR-profiili abil. See rõhutab nende jätkuvat asjakohasust ja usaldusväärsust tänapäeva neerufüsioloogilistes uuringutes. Nende võime taastada in vivo sarnast käitumist kontrollitud tingimustes on kehtestanud nad standardiks epiteelifunktsiooni, nefrotoksilisuse ja neeruhaiguste modelleerimise uuringutes.

Organism Hiir

Tissue Neerud, kortikaalne kogumiskanal

Synonyms M1-CCD

Omadused

Breed/Subspecies Tg(SV40E)Bri/7 transgeeniline

Age Täpsustamata

Gender Täpsustamata

Morphology Epiteel

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation M-1 (Cytioni katalooginumber 305261)

M-1 rakud | 305261**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_8786**GMO Status** GMO-S1: See hiirte kogumiskanali rakuliin (M-1) sisaldab SV40 varajast piirkonda transgeensest hiireliinist (Tg(SV40E)Bri7), mis toetab stabiilset immortaliseerimist. Konstruksioon on endogeenselt integreeritud transgeensesse fooni. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.**Biomolekulaarsed andmed****Viruses** Simian virus 40 (SV40)**Töötlemine****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820400a)**Supplements** Täiendada söötme 5% FBS, 5 µM deksametasooni**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

M-1 rakud | 305261

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

M-1 rakud | 305261

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.