

M-1 sejtek | 305261

Általános információk

Description

Az M-1 sejtvonal egy jól jellemzett epitélmodell, amely egy transzgenikus felnőtt egér veséjéből származik. Az M-1 sejtek a kéregállomány gyűjtőcsatorna epitéliumából származnak, és megtartják ennek a nefronszegmensnek számos differenciált jellemzőjét. Ezek a sejtek a kérgi gyűjtőjárat sejtjeire jellemző markereket expresszálnak, beleértve az epiteliális nátriumcsatornákat (ENaC), aquaporinokat és a tight junction fehérjéket, így széles körben használt in vitro modellé váltak a vese fiziológiájának, az iontranszportnak és az epiteliális polaritás vizsgálatára.

Funkcionálisan az M-1 sejtek magas transzepithelialis rezisztenciát és vektorális iontranszport tulajdonságokat mutatnak, amelyek kritikusak az aldosteron által szabályozott nátrium reabszorpció és a vazopresszin által közvetített víztranszport tanulmányozásához. Stoos és munkatársai alapozó jellemzése szerint az M-1 sejtek polarizált monoréteget képeznek permeábilis hordozókon, és megfelelő érzékenységet mutatnak a transzportfehérjék expresszióját és aktivitását szabályozó hormonális ingerekre, például a dexametazonra és az aldosteronra. Ezek a tulajdonságok az M-1 sejteket különösen értékesé teszik a vese epitelsejtek elektrolitkezelési és sejtes jelátviteli mechanizmusainak feltárásában.

Ezenkívül az M-1 sejteket újabb vizsgálatokban validálták, beleértve az egérsjtvonalak STR-profilozással történő genetikai hitelesítését. Ez aláhúzza folyamatos jelentőségüket és megbízhatóságukat a kortárs vesefiziológiai kutatásokban. Az in vivo-szerű viselkedés kontrollált körülmények között történő reprodukálására való képességük standardnak számít az epithelfunkció, a nefrotoxicitás és a vesebetegségek modellezésének vizsgálatában.

Organism Egér

Tissue Vese, kérgi gyűjtőcsatorna

Synonyms M1-CCD

Jellemzők

Breed/Subspecies Tg(SV40E)Bri/7 transzgenikus

Age Meghatározatlan

Gender Meghatározatlan

Morphology Epithelialis

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

M-1 sejtek | 305261

Citation	M-1 (Cytion katalógusszám: 305261)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_8786
GMO Status	GMO-S1: Ez az egér gyűjtőcsatorna-sejtvonal (M-1) tartalmazza az SV40 korai régióját egy transzgenikus egérvonalból (Tg(SV40E)Bri7), ami támogatja a stabil immortalizációt. A konstrukció endogén módon integrálódik a transzgenikus háttérbe. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, és máshol eltérhet.

Biomolekuláris adatok

Viruses	Simian virus 40 (SV40)
----------------	------------------------

A kezelése

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nátrium-piruvát, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820400a cikkszám)
Supplements	A táptalajt 5% FBS-szel, 5 µM dexametazon-nal egészítjük ki
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

M-1 sejtek | 305261

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

M-1 sejtek | 305261

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatói módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.