

Cellule M-1 | 305261**Informazioni generali****Description**

La linea cellulare M-1 è un modello epiteliale ben caratterizzato derivato dal rene di un topo adulto transgenico. In particolare, le cellule M-1 originano dall'epitelio del dotto collettore corticale e conservano molte caratteristiche differenziate di questo segmento di nefrone. Queste cellule esprimono marcatori tipici delle cellule del dotto collettore corticale, tra cui i canali epiteliali del sodio (ENaC), le acquaporine e le proteine della giunzione stretta, che le rendono un modello in vitro ampiamente utilizzato per studi di fisiologia renale, trasporto ionico e polarità epiteliale.

Dal punto di vista funzionale, le cellule M-1 presentano un'elevata resistenza transepiteliale e proprietà di trasporto ionico vettoriale, fondamentali per lo studio del riassorbimento del sodio regolato dall'aldosterone e del trasporto di acqua mediato dalla vasopressina. Secondo la caratterizzazione fondamentale di Stoos et al., le cellule M-1 formano monostrati polarizzati su supporti permeabili e mostrano un'adeguata reattività agli stimoli ormonali, come il desametasone e l'aldosterone, che regolano l'espressione e l'attività delle proteine di trasporto. Queste caratteristiche rendono le cellule M-1 particolarmente preziose per analizzare i meccanismi di gestione degli elettroliti e di segnalazione cellulare nelle cellule epiteliali renali.

Inoltre, le cellule M-1 sono state convalidate in studi più recenti, tra cui l'autenticazione genetica utilizzando il profilo STR per le linee cellulari di topo. Ciò sottolinea la loro continua rilevanza e affidabilità nella ricerca contemporanea sulla fisiologia renale. La loro capacità di ricapitolare comportamenti simili a quelli in vivo in condizioni controllate le ha rese uno standard negli studi sulla funzione epiteliale, sulla nefrotossicità e sulla modellazione delle malattie renali.

Organism

Mouse

Tissue

Rene, dotto collettore corticale

Synonyms

M1-CCD

Caratteristiche**Breed/Subspecies**

Tg(SV40E)Bri/7 transgenico

Age

Non specificato

Gender

Non specificato

Morphology

Epiteliale

Growth properties

Aderente

Dati normativi

Cellule M-1 | 305261**Citation** M-1 (numero di catalogo Cytion 305261)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_8786

GMO Status GMO-S1: Questa linea cellulare del dotto collettore murino (M-1) contiene la regione precoce di SV40 da una linea di topo transgenica (Tg(SV40E)Bri7), che supporta l'immortalizzazione stabile. Il costrutto è integrato endogenamente nel background transgenico. Questa classificazione si applica solo in Germania e può differire altrove.

Dati biomolecolari**Viruses** Virus 40 simiano (SV40)**Manipolazione**

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L di glucosio, w: 2,5 mM di L-Glutammina, w: 15 mM di HEPES, w: 0,5 mM di Sodio piruvato, w: 1,2 g/L di NaHCO₃ (articolo Cytion numero 820400a)

Supplements Integrare il terreno di coltura con 5% FBS, 5 µM desametasone

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Split ratio Si raccomanda un rapporto da 1:3 a 1:4

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule M-1 | 305261

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule M-1 | 305261

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.