

M-1 ląstelės | 305261**Bendra informacija****Description**

M-1 ląstelių linija yra gerai apibūdintas epitelio modelis, gautas iš transgeninės suaugusios pelės inksto. Konkrečiai M-1 ląstelės yra kilusios iš kortikalinio surenkamųjų latakų epitelio ir išlaiko daugelį šio nefrono segmento diferencijuotų savybių. Šios ląstelės išreiškia kortikalinų surenkamųjų latakų ląstelėms būdingus žymenis, įskaitant epitelinius natrio kanalus (ENaC), akvaporinus ir sandarios jungties baltymus, todėl jos yra plačiai naudojamas in vitro modelis inkstų fiziologijai, jonų pernašai ir epitelio poliarizavimo tyrimams.

Funkciniu požiūriu M-1 ląstelės pasižymi dideliu transepiteliniu pasipriešinimu ir vektorinėmis jonų pernašos savybėmis, kurios labai svarbios tiriant aldosterono reguliuojamą natrio reabsorbciją ir vazopresino tarpininkaujamą vandens pernašą. Remiantis Stoos ir kt. atliktu pagrindiniu apibūdinimu, M-1 ląstelės sudaro poliarizuotus monosluoksnius ant pralaidžių laikiklių ir tinkamai reaguoja į hormoninius stimulus, tokius kaip deksametazonas ir aldosteronas, kurie reguliuoja transportinių baltymų raišką ir aktyvumą. Dėl šių savybių M-1 ląstelės yra ypač vertingos tiriant inkstų epitelio ląstelių elektrolitų tvarkymo ir ląstelių signalizacijos mechanizmus.

Be to, M-1 ląstelės buvo patvirtintos naujausiais tyrimais, įskaitant genetinį autentiškumo nustatymą naudojant STR profiliavimą pelių ląstelių linijoms. Tai rodo, kad jos išlieka svarbios ir patikimos šiuolaikiniuose inkstų fiziologijos tyrimuose. Dėl jų gebėjimo kontroliuojamomis sąlygomis atkurti in vivo elgesį jos tapo epitelio funkcijos, nefrotoksiškumo ir inkstų ligų modeliavimo tyrimų standartu.

Organism

Pelė

Tissue

Inkstai, kortikalinis surenkamasis latakas

Synonyms

M1-CCD

Charakteristikos**Breed/Subspecies**

Tg(SV40E)Bri/7 transgeninis

Age

Nenustatyta

Gender

Nenustatyta

Morphology

Epitelis

Growth properties

Prigludęs

Reguliavimo duomenys**Citation**

M-1 (Cytion katalogo numeris 305261)

M-1 ląstelės | 305261

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_8786

GMO Status GMO-S1: Šioje pelių surenkamųjų latakų ląstelių linijoje (M-1) yra ankstyvoji SV40 sritis iš transgeninės pelės linijos (Tg(SV40E)Bri7), palaikanti stabilią imortalizaciją. Konstruktas yra endogeniškai integruotas į transgeninį foną. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

Viruses Simian virus 40 (SV40)

Tvarkymas

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)

Supplements Papildykite terpę 5 % FBS, 5 µM deksametazono

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

M-1 ląstelės | 305261**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

**Freezing
Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

M-1 ląstelės | 305261

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.