

M-1 šūnas | 305261

Vispārīga informācija

Description

M-1 šūnu līnija ir labi raksturots epitēlija modelis, kas iegūts no transgēnas pieaugušas peles nierēs. Konkrēti, M-1 šūnas nāk no kortikālā savācējkanāla epitēlija un saglabā daudzas šī nefrona segmenta diferencētas pazīmes. Šīs šūnas ekspresē marķierus, kas raksturīgi garo savācējkanālu šūnām, tostarp epitēlija nātrija kanālus (ENaC), akvaporīnus un ciešo savienojumu proteīnus, tāpēc tās ir plaši izmantots in vitro modelis nieru fizioloģijas, jonu transporta un epitēlija polaritātes pētījumiem.

Funkcionāli M-1 šūnām piemīt augsta transepitēlija pretestība un vektoriālas jonu transporta īpašības, kas ir ļoti svarīgas, pētot aldosterona regulētu nātrija reabsorbciju un vazopresīna mediētu ūdens transportu. Saskaņā ar Stoos et al. veikto fundamentālo raksturojumu M-1 šūnas veido polarizētus monoslāņus uz caurlaidīgiem balstiem un uzrāda atbilstošu reakciju uz hormonāliem stimuliem, piemēram, deksametazonu un aldosteronu, kas regulē transporta proteīnu ekspresiju un aktivitāti. Šīs īpašības padara M-1 šūnas īpaši vērtīgas elektrolītu apstrādes un šūnu signalizācijas mehānismu izpētei nieru epitēlija šūnās.

Turklāt M-1 šūnas ir apstiprinātas jaunākajos pētījumos, tostarp ģenētiskajā autentificēšanā, izmantojot STR profilēšanu pelu šūnu līnijām. Tas uzsvēr to pastāvīgo nozīmi un uzticamību mūsdienīgu nieru fizioloģijas pētījumos. To spēja kontrolētos apstākļos atdarināt in vivo līdzīgu uzvedību ir noteikusi tās kā standartu epitēlija funkcijas, nefrotoksicitātes un nieru slimību modelēšanas pētījumos.

Organism Pele

Tissue Nieres, kores savācējvads

Synonyms M1-CCD

Raksturojums

Breed/Subspecies Tg(SV40E)Bri/7 transgēnu

Age Nav norādīts

Gender Nav norādīts

Morphology Epitēlija

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation M-1 (Cytion kataloga numurs 305261)

M-1 šūnas | 305261

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_8786**GMO Status** GMO-S1: Šī peļu savācējkanālu šūnu līnija (M-1) satur agrīno SV40 reģionu no transgēnās peļu līnijas (Tg(SV40E)Bri7), kas nodrošina stabilu imortalizāciju. Konstrukts ir endogēni integrēts transgēnajā fonā. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.**Biomolekulārie dati****Viruses** Simian vīruss 40 (SV40)**Darbs ar****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)**Supplements** Papildināt barotni ar 5% FBS, 5 μM deksametazona**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

M-1 šūnas | 305261

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

M-1 šūnas | 305261

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.