

M-1-celler | 305261**Generell informasjon****Description**

M-1-cellelinjen er en velkarakterisert epitelmodell avledet fra nyrene til en transgen voksen mus. M-1-cellene stammer fra epitelet i de kortikale samlegangene og har mange av de differensierte egenskapene til dette nefronsegmentet. Disse cellene uttrykker markører som er typiske for kortikale samlegangsceller, inkludert epiteliale natriumkanaler (ENaC), akvaporiner og tight junction-proteiner, noe som gjør dem til en mye brukt in vitro-modell for studier av nyrefysiologi, ionetransport og epitelial polaritet.

Funksjonelt sett har M-1-celler høy transepitelial motstand og vektorielle ionetransportegenskaper, noe som er avgjørende for å studere aldosteronregulert natriumreabsorpsjon og vasopressinmediert vanntransport. Ifølge den grunnleggende karakteriseringen til Stoos og medarbeidere danner M-1-celler polariserte monolag på permeable underlag, og de reagerer på hormonelle stimuli, som deksametason og aldosteron, som regulerer transportproteinuttrykk og -aktivitet. Disse egenskapene gjør M-1-celler spesielt verdifulle når det gjelder å dissekere mekanismer for elektrolytthåndtering og cellulær signalering i nyrenes epitelceller.

M-1-celler har dessuten blitt validert i nyere studier, inkludert genetisk autentisering ved hjelp av STR-profilering for musecellelinjer. Dette understreker deres fortsatte relevans og pålitelighet i moderne nyrefysiologisk forskning. Deres evne til å rekapitulere in vivo-lignende atferd under kontrollerte forhold har etablert dem som en standard i studier av epitelfunksjon, nefrotoksisitet og modellering av nyresykdommer.

Organism

Mus

Tissue

Nyre, kortikal samlekanal

Synonyms

M1-CCD

Kjennetegn**Breed/Subspecies**

Tg(SV40E)Bri/7 transgen

Age

Uspesifisert

Gender

Uspesifisert

Morphology

Epitelial

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data**Citation**

M-1 (Cytion-katalognummer 305261)

M-1-celler | 305261**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_8786

GMO Status GMO-S1: Denne cellelinjen (M-1) fra murine samlerkanaler inneholder den tidlige regionen av SV40 fra en transgen muselinje (Tg(SV40E)Bri7), noe som støtter stabil uødeliggjøring. Konstruktet er endogent integrert i den transgene bakgrunnen. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan avvike andre steder.

Biomolekylære data**Viruses** Simian virus 40 (SV40)**Håndtering**

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820400a)

Supplements Suppler mediet med 5 % FBS, 5 µM deksametason

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Split ratio Et forhold på 1:3 til 1:4 anbefales

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

M-1-celler | 305261

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150°C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37°C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

M-1-celler | 305261

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.