

Bunky M-1 | 305261**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia M-1 je dobre charakterizovaný epitelový model odvodený z obličky transgéennej dospeléj myši. Bunky M-1 pochádzajú konkrétne z epitelu kortikálneho zberného kanálika a zachovávajú si mnohé diferencované znaky tohto segmentu nefrónu. Tieto bunky exprimujú markery typické pre bunky kortikálnych zberných kanálikov vrátane epitelových sodíkových kanálov (ENaC), akvaporínov a proteínov tesného spojenia, vďaka čomu sú široko používaným modelom in vitro pre fyziológiu obličiek, transport iónov a štúdie epitelovej polarity.

Z funkčného hľadiska vykazujú bunky M-1 vysokú transepiteliálnu rezistenciu a vektorové vlastnosti transportu iónov, ktoré sú rozhodujúce pre štúdium aldosterónom regulovanej reabsorpcie sodíka a vazopresínom sprostredkovaného transportu vody. Podľa základnej charakteristiky Stoosa a kol. tvoria bunky M-1 polarizované monovrstvy na priepustných nosičoch a vykazujú primeranú reakciu na hormonálne podnety, ako je dexametazón a aldosterón, ktoré regulujú expresiu a aktivitu transportných proteínov. Vďaka týmto vlastnostiam sú bunky M-1 obzvlášť cenné pri pitve mechanizmov manipulácie s elektrolytmi a bunkovej signalizácie v epitelových bunkách obličiek.

Bunky M-1 boli navyše overené v novších štúdiách vrátane genetickej autentifikácie pomocou profilovania STR pre myšie bunkové línie. To podčiarkuje ich trvalý význam a spoľahlivosť v súčasnom výskume fyziológie obličiek. Ich schopnosť rekapitulovať správanie podobné in vivo v kontrolovaných podmienkach ich etablovala ako štandard v štúdiách epitelálnej funkcie, nefrotoxicity a modelovania obličkových ochorení.

Organism

Myš

Tissue

Obličky, kortikálny zberný kanálik

Synonyms

M1-CCD

Charakteristika**Breed/Subspecies**

Tg(SV40E)Bri/7 transgéenne

Age

Nešpecifikované

Gender

Nešpecifikované

Morphology

Epitelové

Growth properties

Adherent

Regulačné údaje

Bunky M-1 | 305261

Citation	M-1 (katalógové číslo Cytion 305261)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_8786
GMO Status	GMO-S1: Táto línia buniek zberných kanálikov myší (M-1) obsahuje skorú oblasť SV40 z transgénej myšej línie (Tg(SV40E)Bri7), ktorá podporuje stabilnú imortalizáciu. Konštrukt je endogénne integrovaný do transgénneho pozadia. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.

Biomolekulárne údaje

Viruses	Simian vírus 40 (SV40)
----------------	------------------------

Spracovanie

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-glutamínu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium o 5 % FBS, 5 µM dexametazónu
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky M-1 | 305261

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky M-1 | 305261

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.