

Celice M-1 | 305261

Splošne informacije

Description

Celična linija M-1 je dobro opisan epiteljski model, pridobljen iz ledvic transgene odrasle miši. Celice M-1 izvirajo iz kortikalnega epitela zbiralnega kanala in ohranjajo številne diferencirane značilnosti tega segmenta nefrona. Te celice izražajo označevalce, značilne za celice kortikalnega zbiralnega kanala, vključno z epiteljskimi natrijevimi kanali (ENaC), akvaporini in proteini tesnega spoja, zato so pogosto uporabljen in vitro model za fiziologijo ledvic, prenos ionov in študije polarnosti epitelija.

Funkcionalno imajo celice M-1 visok transepiteljski upor in vektorske lastnosti prenosa ionov, ki so ključnega pomena za preučevanje z aldosteronom uravnavane reabsorpcije natrija in vazopresinom posredovanega prenosa vode. V skladu s temeljno karakterizacijo, ki so jo opravili Stoos in drugi, tvorijo celice M-1 polarizirane monosloje na prepustnih nosilcih in kažejo ustrezno odzivnost na hormonske dražljaje, kot sta deksametazon in aldosteron, ki uravnavata izražanje in aktivnost transportnih beljakovin. Zaradi teh lastnosti so celice M-1 še posebej dragocene pri raziskovanju mehanizmov ravnanja z elektroliti in celične signalizacije v epiteljskih celicah ledvic.

Poleg tega so bile celice M-1 potrjene v novejših študijah, vključno z genetsko avtentikacijo z uporabo STR profiliranja za miške celične linije. To poudarja njihov nadaljnji pomen in zanesljivost v sodobnih raziskavah fiziologije ledvic. Njihova zmožnost, da v nadzorovanih pogojih ponovijo vedenje, podobno vedenju in vivo, jih je uveljavila kot standard v študijah delovanja epitelija, nefrotoksičnosti in modeliranja ledvičnih bolezni.

Organism

Miška

Tissue

Ledvica, kortikalni zbirni kanal

Synonyms

M1-CCD

Značilnosti

Breed/Subspecies

Tg(SV40E)Bri/7 transgeni

Age

Neopredeljeno

Gender

Neopredeljeno

Morphology

Epiteljski

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation

M-1 (Cytionova kataloška številka 305261)

Celice M-1 | 305261

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_8786

GMO Status GSO-S1: Ta linija celic zbiralnih kanalov pri miših (M-1) vsebuje zgodnje območje SV40 iz transgenske linije miši (Tg(SV40E)Bri7), ki podpira stabilno imortalizacijo. Konstrukt je endogeno integriran v transgenem ozadju. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.

Biomolekularni podatki

Viruses Simijanski virus 40 (SV40)

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoze, w: 2,5 mM L-glutamina, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrijevega piruvata, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820400a)

Supplements Gojišče dopolnite s 5 % FBS, 5 µM deksametazona

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogska številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

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

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

**Freezing
Procedure**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

**Shipping
Conditions**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice M-1 | 305261

**Storage
Conditions**

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.