

## Buňky M-1 | 305261

## Obecné informace

## Description

Buněčná linie M-1 je dobře charakterizovaný epiteliální model odvozený z ledvin transgenní dospělé myši. Konkrétně buňky M-1 pocházejí z kortikálního epitelu sběrného kanálku a zachovávají si mnoho diferencovaných znaků tohoto segmentu nefronu. Tyto buňky exprimují markery typické pro buňky kortikálního sběrného kanálku, včetně epiteliálních sodíkových kanálů (ENaC), akvaporinů a proteinů těsných spojů, a jsou tak široce používaným in vitro modelem pro studium fyziologie ledvin, transportu iontů a epiteliální polarity.

Z funkčního hlediska vykazují buňky M-1 vysoký transepiteliální odpor a vektoriální vlastnosti transportu iontů, které jsou rozhodující pro studium aldosteronem regulované reabsorpce sodíku a vazopresinem zprostředkovaného transportu vody. Podle základní charakteristiky Stoose a spol. tvoří buňky M-1 polarizované monovrstvy na propustných nosičích a vykazují odpovídající reaktivitu na hormonální podněty, jako je dexametazon a aldosteron, které regulují expresi a aktivitu transportních proteinů. Díky těmto vlastnostem jsou buňky M-1 zvláště cenné při zkoumání mechanismů manipulace s elektrolyty a buněčné signalizace v epiteliálních buňkách ledvin.

Buňky M-1 byly navíc ověřeny v novějších studiích, včetně genetického ověření pomocí profilování STR pro myši buněčné linie. To podtrhuje jejich trvalý význam a spolehlivost v současném výzkumu fyziologie ledvin. Jejich schopnost rekapitulovat chování podobné chování in vivo v kontrolovaných podmínkách je zavedla jako standard ve studiích epiteliálních funkcí, nefrotoxicity a modelování onemocnění ledvin.

**Organism** Myš**Tissue** Ledvina, korový sběrný kanálek**Synonyms** M1-CCD

## Charakteristika

**Breed/Subspecies** Tg(SV40E)Bri/7 transgenní**Age** Nespecifikováno**Gender** Nespecifikováno**Morphology** Epitelové**Growth properties** Adherentní

## Regulační údaje

**Citation** M-1 (katalogové číslo Cytion 305261)

## Buňky M-1 | 305261

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_8786

**GMO Status** GMO-S1: Tato linie myších buněk sběrných kanálků (M-1) obsahuje časnou oblast SV40 z transgenní myší linie (Tg(SV40E)Bri7), která podporuje stabilní imortalizaci. Konstrukt je endogenně integrován do transgenního pozadí. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

## Biomolekulární data

**Viruses** Simian virus 40 (SV40)

## Zpracování

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820400a)

**Supplements** Doplňte médium o 5 % FBS, 5 µM dexametazonu

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:3 až 1:4

**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

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

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation  
Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating**

Žádný

**Freezing  
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping  
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

## Buňky M-1 | 305261

### Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

## Kontrola kvality a molekulární analýza

### Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.