

**Komórki M-1 | 305261****Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa M-1 jest dobrze scharakteryzowanym modelem nabłonkowym pochodzącym z nerki transgenicznej dorosłej myszy. W szczególności, komórki M-1 pochodzą z nabłonka korowego przewodu zbiorczego i zachowują wiele zróżnicowanych cech tego segmentu nefronu. Komórki te wykazują ekspresję markerów typowych dla komórek korowych przewodów zbiorczych, w tym nabłonkowych kanałów sodowych (ENaC), akwaporyn i białek połączeń ścisłych, co czyni je szeroko stosowanym modelem in vitro do badań fizjologii nerek, transportu jonów i polaryzacji nabłonka.

Funkcjonalnie, komórki M-1 wykazują wysoki opór przezbłonowy i właściwości wektorowego transportu jonów, które są krytyczne dla badania reabsorpcji sodu regulowanej aldosteronem i transportu wody za pośrednictwem wazopresyny. Zgodnie z podstawową charakterystyką Stoosa i wsp., komórki M-1 tworzą spolaryzowane monowarstwy na przepuszczalnych podłożach i wykazują odpowiednią reaktywność na bodźce hormonalne, takie jak deksametazon i aldosteron, które regulują ekspresję i aktywność białek transportowych. Cechy te sprawiają, że komórki M-1 są szczególnie cenne w analizie mechanizmów gospodarki elektrolitowej i sygnalizacji komórkowej w komórkach nabłonka nerek.

Co więcej, komórki M-1 zostały zweryfikowane w najnowszych badaniach, w tym w uwierzytelnianiu genetycznym przy użyciu profilowania STR dla mysich linii komórkowych. Podkreśla to ich ciągłe znaczenie i niezawodność we współczesnych badaniach nad fizjologią nerek. Ich zdolność do odtwarzania zachowań in vivo w kontrolowanych warunkach sprawiła, że stały się one standardem w badaniach nad funkcją nabłonka, nefrotoksycznością i modelowaniem chorób nerek.

**Organism** Mysz**Tissue** Nerka, korowy przewód zbiorczy**Synonyms** M1-CCD**Charakterystyka****Breed/Subspecies** Transgeniczny Tg(SV40E)Bri/7**Age** Nieokreślony**Gender** Nieokreślony**Morphology** Nabłonek**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne**

**Komórki M-1 | 305261**

<b>Citation</b>	M-1 (numer katalogowy Cytion 305261)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_8786
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Ta mysia linia komórek przewodu zbiorczego (M-1) zawiera wczesny region SV40 z transgenicznej linii mysiej (Tg(SV40E)Bri7), wspierając stabilną immortalizację. Konstrukt jest endogennie zintegrowany z tłem transgenicznym. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może różnić się w innych krajach.

**Dane biomolekularne**

<b>Viruses</b>	Simian virus 40 (SV40)
----------------	------------------------

**Obsługa**

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO <sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820400a)
<b>Supplements</b>	Uzupełnić pożywkę 5% FBS, 5 µM deksametazonem
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
<b>Split ratio</b>	Zalecany jest stosunek 1:3 do 1:4
<b>Freeze medium</b>	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

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

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

**Flask Coating**

Brak

**Freezing  
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Komórki M-1 | 305261

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Przechowywanie w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.