

Células M-1 | 305261**Informações gerais****Description**

A linha celular M-1 é um modelo epitelial bem caracterizado derivado do rim de um rato adulto transgênico. Especificamente, as células M-1 são originárias do epitélio do ducto coletor cortical e mantêm muitas características diferenciadas deste segmento do néfron. Estas células expressam marcadores típicos das células do ducto coletor cortical, incluindo canais epiteliais de sódio (ENaC), aquaporinas e proteínas de junção apertada, o que as torna um modelo in vitro amplamente utilizado para estudos de fisiologia renal, transporte de íons e polaridade epitelial.

Funcionalmente, as células M-1 apresentam uma elevada resistência transepitelial e propriedades de transporte vetorial de íons, que são fundamentais para o estudo da reabsorção de sódio regulada pela aldosterona e do transporte de água mediado pela vasopressina. De acordo com a caracterização fundamental de Stoos et al., as células M-1 formam monocamadas polarizadas em suportes permeáveis e mostram uma resposta adequada a estímulos hormonais, como a dexametasona e a aldosterona, que regulam a expressão e a atividade das proteínas de transporte. Estas características tornam as células M-1 particularmente valiosas para dissecar os mecanismos de manipulação de electrólitos e de sinalização celular em células epiteliais renais.

Além disso, as células M-1 foram validadas em estudos mais recentes, incluindo a autenticação genética utilizando perfis STR para linhas celulares de ratinhos. Isto sublinha a sua contínua relevância e fiabilidade na investigação contemporânea da fisiologia renal. A sua capacidade de recapitular comportamentos semelhantes aos in vivo em condições controladas estabeleceu-as como um padrão em estudos sobre a função epitelial, nefrotoxicidade e modelação de doenças renais.

Organism

Rato

Tissue

Rim, ducto coletor cortical

Synonyms

M1-CCD

Caraterísticas**Breed/Subspecies**

Tg(SV40E)Bri/7 transgênico

Age

Não especificado

Gender

Não especificado

Morphology

Epitelial

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares

Células M-1 | 305261

Citation	M-1 (número de catálogo Cytion 305261)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_8786
GMO Status	GMO-S1: Esta linha celular do ducto coletor murino (M-1) contém a região inicial do SV40 de uma linha de ratinho transgênico (Tg(SV40E)Bri7), que suporta uma imortalização estável. A construção está integrada endogenamente no fundo transgênico. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares

Viruses	Vírus símio 40 (SV40)
---------	-----------------------

Manuseamento

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO ₃ (número de artigo Cytion 820400a)
Supplements	Suplementar o meio com 5% de FBS, 5 µM de dexametasona
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Split ratio	Recomenda-se um rácio de 1:3 a 1:4
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

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

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

**Freezing
Procedure**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células M-1 | 305261

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.