

Клетки MPC5 | 305481

Обща информация

Description

MPC-5 (известна също като „MPC5“ или „Mouse Podocyte Clone-5“) е условно безсмъртна клетъчна линия от миши подоцити, широко използвана за изучаване на диференциацията на подоцитите и механизмите на увреждане in vitro. Клетките произхождат от бъбречни подоцити с трансгенен фон H2Kb-tsA58 „Immortomouse“ и носят температурно-чувствителна система SV40 голям Т-антиген (SV40LT), която позволява контролирано превключване между състояния на пролиферация и диференциация.

При благоприятни условия за растеж, MPC-5 клетките обикновено се размножават при **33 °C** в присъствието на **интерферон-γ**, който поддържа пролиферацията, задвижвана от SV40LT. За да се индуцира диференциация, клетките се преместват при **37 °C** и интерферон-γ се отстранява, което води до спиране на растежа и придобиване на подоцитоподобни характеристики. По време на диференциацията MPC-5 клетките претърпяват изразена реорганизация на цитоскелета и образуване на процеси; WT1 обикновено се открива във всички състояния, докато експресията на синаптоподин е свързана с диференцирания фенотип. Функционално е доказано, че диференцираните клетки реагират на брадикинина с вътреклетъчна калциева сигнализация, което подкрепя използването им като модел за сигнализация на подоцитите.

MPC-5 често се използва в механистични изследвания на динамиката на цитоскелета на подоцитите, ремоделирането на адхезията/контакта и клетъчните реакции на стрес. Линията се използва широко и за модели на увреждане на подоцитите, свързани с диабетна бъбречна болест, където експозицията на високи нива на глюкоза обикновено се използва за моделиране на оксидативен, възпалителен и апоптотичен стрес и за мониторинг на показателите на подоцитите (например WT1 и маркери, свързани със слит диафрагмата, като експериментални крайни точки). Освен това са изследвани молекулярни регулаторни слоеве в условия на увреждане на MPC-5; например, съобщава се, че miR-204-3p модулира дисфункцията, предизвикана от високи нива на глюкоза, като се насочва към пътя на брадикининовия B2 рецептор (Bdkrb2).

Organism Мишка

Tissue Бъбреци

Disease Нормален

Synonyms MPC-5, миши подоцитен клон-5

Характеристики

Breed/Subspecies (CBA/Ca x C57BL/10)Tg(H2Kb-tsA58) Безсмъртни мишки

Age Неуточнено

Gender Неуточнено

Клетки MPC5 | 305481

Cell type Подоцити

Growth properties Придържащи се

Регулаторни данни

Citation MPC5 (каталожен номер 305481 на Cytion)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_AS87

Биомолекулярни данни

Viruses Трансформатор: Simian virus 40 (SV40)

Работа с

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820700a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки MPC5 | 305481

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки MPC5 | 305481

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.