

MPC5 rakud | 305481

Üldine teave

Description

MPC-5 (tuntud ka kui „MPC5” või „Mouse Podocyte Clone-5”) on tingimuslikult surematuks muudetud hiire podotsüütide rakuliin, mida kasutatakse laialdaselt podotsüütide diferentseerumise ja kahjustumismehhanismide uurimiseks in vitro. Rakud pärinevad transgeense H2Kb-tsA58 „Immortomouse” taustaga neeru podotsüütidest ja kannavad temperatuuritundlikku SV40 suure T-antigeeni (SV40LT) süsteemi, mis võimaldab kontrollitud üleminekut proliferatsiooni- ja diferentseerumisolekute vahel.

Soodsates kasvutingimustes paljunevad MPC-5 rakud tavaliselt **33 °C** juures **interferoon-γ** juuresolekul, mis toetab SV40LT-st tingitud proliferatsiooni. Diferentseerumise esilekutsumiseks viiakse rakud üle **37 °C** juurde ja eemaldatakse interferoon-γ, mis põhjustab kasvu peatamise ja podotsüütidele omaste tunnuste omandamise. Diferentseerumise ajal läbivad MPC-5 rakud märkimisväärse tsütoskeleti ümberkorralduse ja protsesside moodustumise; WT1-i tuvastatakse tavaliselt kõigis seisundites, samas kui sünaptopodiini ekspressioon on seotud diferentseerunud fenotüübiga. Funktsionaalselt on näidatud, et diferentseerunud rakud reageerivad bradükiniinile rakusisese kaltsiumi signaalimisega, mis toetab nende kasutamist podotsüütide signaalimismudelina.

MPC-5-t kasutatakse sageli podotsüütide tsütoskeleti dünaamika, adhesiooni/kontakti ümberkujundamise ja rakuliste stressireaktsioonide mehhanistlikes uuringutes. Seda liini kasutatakse laialdaselt ka podotsüütide kahjustuse mudelites, mis on seotud diabeetilise neeruhaigusega, kus kõrge glükoositaseme ekspositsiooni kasutatakse tavaliselt oksüdatiivse, põletikulise ja apoptootilise stressi modelleerimiseks ning podotsüütide näitajate jälgimiseks (nt WT1 ja piludiafragmaga seotud markerid eksperimentaalsete lõpptulemustena). Lisaks on MPC-5 kahjustuse tingimustes uuritud molekulaarseid regulatsioonitasandeid; näiteks on teatatud, et miR-204-3p moduleerib kõrge glükoositaseme poolt indutseeritud düsfunktsiooni, suunates oma toimet bradükiniini B2 retseptori (Bdkrb2) signaaliteele.

Organism Hiir

Tissue Neerud

Disease Tavaline

Synonyms MPC-5, hiire podotsüütide kloon-5

Omadused

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

Age Täpsustamata

Gender Täpsustamata

Cell type Podotsüüdid

MPC5 rakud | 305481

Growth properties	Kinnipeetav
--------------------------	-------------

Regulatiivsed andmed

Citation	MPC5 (Cytioni katalooginumber 305481)
-----------------	---------------------------------------

Biosafety level	2
------------------------	---

NCBI_TaxID	10090
-------------------	-------

CellosaurusAccession	CVCL_AS87
-----------------------------	-----------

Biomolekulaarsed andmed

Viruses	Transformant: simian virus 40 (SV40)
----------------	--------------------------------------

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
--------------------	-----------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Freeze medium	Krüsosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.
----------------------	---

MPC5 rakud | 305481

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

MPC5 rakud | 305481

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.