

## MPC5-solut | 305481

## Yleisiä tietoja

## Description

MPC-5 (tunnetaan myös nimillä "MPC5" tai "Mouse Podocyte Clone-5") on ehdollisesti ikuistettu hiiren podosyyttisolulinja, jota käytetään laajalti podosyyttien erilaistumisen ja vaurioitumismekanismien tutkimiseen in vitro. Solut ovat peräisin transgeenisen H2Kb-tsA58 "Immortomouse" -taustan munuaispodosyytteistä ja kantavat lämpötilaherkkää SV40-suurta T-antigeenijärjestelmää (SV40LT), joka mahdollistaa hallitun siirtymisen proliferaatio- ja erilaistumistilojen välillä.

Sallivissa kasvuolosuhteissa MPC-5-soluja kasvatetaan tyypillisesti **33 °C:ssa interferoni-γ:n** läsnä ollessa, mikä tukee SV40LT:n ohjaamaa proliferaatiota. Erilaistumisen indusoimiseksi solut siirretään **37 °C:seen** ja interferoni-γ poistetaan, mikä johtaa kasvun pysähtymiseen ja podosyyttien kaltaisten ominaisuuksien hankkimiseen. Eriytyksen aikana MPC-5-soluissa tapahtuu voimakas sytoskeletaalin uudelleenjärjestely ja prosessien muodostuminen; WT1:tä havaitaan yleisesti kaikissa tiloissa, kun taas synaptopodiinien ilmentyminen liittyy eriytyneeseen fenotyyppiin. Toiminnallisesti eriytyneiden solujen on osoitettu reagoivan bradykiniiniin solunsisäisellä kalsiumsignaalilla, mikä tukee niiden käyttöä podosyyttien signaalintimallina.

MPC-5:tä käytetään usein podosyyttien sytoskeletaalin dynamiikan, adheesion/kontaktin uudelleenmuodostumisen ja solustressivasteiden mekanistisissa tutkimuksissa. Linjaa käytetään myös laajasti podosyyttien vaurioitumismalleissa, jotka liittyvät diabeettiseen munuaissairauteen, jossa korkea glukoosipitoisuutta käytetään yleisesti hapettumisen, tulehduksen ja apoptoottisen stressin mallintamiseen sekä podosyyttien lukemien seurantaan (esim. WT1 ja slit-kalvoon liittyvät merkkiaineet kokeellisina päätepisteinä). Lisäksi MPC-5-vaurioasetelmissa on tutkittu molekyyli-tason säätelymekanismeja; esimerkiksi miR-204-3p:n on raportoitu moduloivan korkean glukoosipitoisuuden aiheuttamaa toimintahäiriötä kohdistamalla bradykiniini B2 -reseptorin (Bdkrb2) reittiin.

## Organism

Hiiri

## Tissue

Munuaiset

## Disease

Normaali

## Synonyms

MPC-5, hiiren podosyyttikloni-5, hiiren podosyyttikloni-5

## Ominaisuudet

## Breed/Subspecies

(CBA/Ca x C57BL/10)Tg(H2Kb-tsA58) Kuolematon hiiri

## Age

Määrittelemätön

## Gender

Määrittelemätön

## Cell type

Podosyytti

## MPC5-solut | 305481

<b>Growth properties</b>	Tarttuva
--------------------------	----------

## Säätelytiedot

<b>Citation</b>	MPC5 (Cytionin luettelonumero 305481)
-----------------	---------------------------------------

<b>Biosafety level</b>	2
------------------------	---

<b>NCBI_TaxID</b>	10090
-------------------	-------

<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_AS87
-----------------------------	-----------

## Biomolekyyli tiedot

<b>Viruses</b>	Transformantti: simian virus 40 (SV40)
----------------	--

## Käsittely

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytionin artikkelinumero 820700a)
-----------------------	--

<b>Supplements</b>	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
--------------------	---

<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
-----------------------------	----------

<b>Freeze medium</b>	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.
----------------------	---

## MPC5-solut | 305481

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta  $300 \times g$ :n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Ei mitään

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ :ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ :ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## MPC5-solut | 305481

### Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.