

MPC5 ląstelės | 305481

Bendra informacija

Description

MPC-5 (taip pat žinoma kaip „MPC5“ arba „Pelių podocitų klonas-5“) yra sąlygiškai nemirtinga pelių podocitų ląstelių linija, plačiai naudojama podocitų diferenciacijos ir pažeidimo mechanizmams tirti in vitro. Ląstelės kilusios iš transgeninių H2Kb-tsA58 „Immortomouse“ foninių inkstų podocitų ir turi temperatūrai jautrią SV40 didžiojo T antigeno (SV40LT) sistemą, kuri leidžia kontroliuoti perėjimą iš proliferacijos į diferenciacijos būseną.

Palankiomis augimo sąlygomis MPC-5 ląstelės paprastai dauginamos **33 °C** temperatūroje esant **interferonui-γ**, kuris palaiko SV40LT skatinamą proliferaciją. Norint indukuoti diferenciaciją, ląstelės perkeliamos į **37 °C temperatūrą** ir pašalinamas interferonas-γ, o tai lemia augimo sustabdymą ir podocitams būdingų savybių įgijimą. Diferenciacijos metu MPC-5 ląstelės patiria ryškų citoskeleto reorganizavimą ir išaugų formavimąsi; WT1 dažniausiai aptinkamas visose būsenose, o sinaptopodino ekspresija siejama su diferencijuotu fenotipu. Funkciniu požiūriu, diferencijuotos ląstelės reaguoja į bradikininę su intraląstelinio kalcio signalizavimu, o tai patvirtina jų tinkamumą naudoti kaip podocitų signalizacijos modelį.

MPC-5 dažnai naudojama podocitų cito-skeleto dinamikos, adhezijos/kontakto pertvarkymo ir ląstelių streso reakcijų mechanistiniuose tyrimuose. Ši linija taip pat plačiai naudojama podocitų pažeidimo paradigmoms, susijusioms su diabetine inkstų liga, kur dažnai naudojamas didelis gliukozės kiekis, siekiant modeliuoti oksidacinį, uždegiminį ir apoptozinį stresą bei stebėti podocitų rodiklius (pvz., WT1 ir su plyšine diafragma susijusius žymeklius kaip eksperimentinius galutinius taškus). Be to, MPC-5 pažeidimo sąlygomis buvo tirti molekuliniai reguliavimo lygmenys; pavyzdžiui, pranešta, kad miR-204-3p moduliuoja aukšto gliukozės lygio sukeltą disfunkciją, veikdamas bradikinino B2 receptoriaus (Bdkrb2) kelią.

Organism

Pelė

Tissue

Inkstai

Disease

Normalus

Synonyms

MPC-5, pelės podocitų klonas-5

Charakteristikos

Breed/Subspecies

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

Age

Nenustatyta

Gender

Nenustatyta

Cell type

Podocitai

Growth properties

Priglundęs

MPC5 ląstelės | 305481

Reguliavimo duomenys

Citation	MPC5 (Cytion katalogo numeris 305481)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_AS87

Biomolekuliniai duomenys

Viruses	Transformantas: Simiano virusas 40 (SV40)
----------------	---

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

MPC5 ląstelės | 305481

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

MPC5 ląstelės | 305481

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.