

MPC5 šūnas | 305481

Vispārīga informācija

Description

MPC-5 (pazīstama arī kā „MPC5” vai „Mouse Podocyte Clone-5”) ir nosacīti nemirstīga peles podocītu šūnu līnija, ko plaši izmanto, lai in vitro pētītu podocītu diferenciāciju un bojājumu mehānismus. Šīs šūnas ir iegūtas no transgēnā H2Kb-tsA58 „Immortomouse” fona nieru podocītiem un nes temperatūras jutīgu SV40 lielā T antigēna (SV40LT) sistēmu, kas ļauj kontrolēti pārslēgties starp proliferācijas un diferenciācijas stāvokļiem.

Labvēlīgos augšanas apstākļos MPC-5 šūnas parasti pavairo **33 °C** temperatūrā **interferona-γ** klātbūtnē, kas veicina SV40LT vadītu proliferāciju. Lai izraisītu diferenciāciju, šūnas pārvieto uz **37 °C** un noņem interferonu-γ, kas izraisa augšanas apstāšanos un podocītu līdzīgu pazīmju iegūšanu. Diferencēšanās laikā MPC-5 šūnas piedzīvo izteiktu citoskeleta reorganizāciju un izaugumu veidošanos; WT1 parasti tiek konstatēts visos stāvokļos, savukārt sinaptopodīna ekspresija ir saistīta ar diferencēto fenotipu. Funkcionāli ir pierādīts, ka diferencētās šūnas reaģē uz bradikinīnu ar intracelulāru kalcija signālu pārraidi, kas atbalsta to izmantošanu kā podocītu signālu pārraides modeli.

MPC-5 bieži izmanto podocītu citoskeleta dinamikas, adhezijas/kontakta pārveidošanās un šūnu stresa reakciju mehānisma pētījumos. Šo līniju plaši izmanto arī podocītu bojājumu paradigmu pētījumos saistībā ar diabētisko nieru slimību, kur augsta glikozes koncentrācija parasti tiek izmantota, lai modelētu oksidatīvo, iekaisuma un apoptozes stresu un uzraudzītu podocītu rādītājus (piemēram, WT1 un ar šķēlveida diafragmu saistītos marķierus kā eksperimentālos galapunktus). Turklāt MPC-5 bojājumu apstākļos ir pētīti molekulārie regulējošie slāņi; piemēram, ir ziņots, ka miR-204-3p modulē augsta glikozes līmeņa izraisītu disfunkciju, iedarbojoties uz bradikinīna B2 receptora (Bdkrb2) ceļu.

Organism Pele

Tissue Nieres

Disease Parasts

Synonyms MPC-5, peļu podocītu klons-5

Raksturojums

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

Age Nav norādīts

Gender Nav norādīts

Cell type Podocīti

Growth properties Adherent

MPC5 šūnas | 305481

Normatīvie dati

Citation	MPC5 (Cytion kataloga numurs 305481)
-----------------	--------------------------------------

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

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

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

Biomolekulārie dati

Viruses	Transformants: Sīmiāna vīruss 40 (SV40)
----------------	---

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
--------------------	-------------------------------

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

Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
----------------------	---

MPC5 šūnas | 305481

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

MPC5 šūnas | 305481

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.