

Buňky MPC5 | 305481

Obecné informace

Description

MPC-5 (známá také jako „MPC5“ nebo „Mouse Podocyte Clone-5“) je podmíněně imortalizovaná buněčná linie myších podocytů, která se široce používá ke studiu diferenciaci podocytů a mechanismů jejich poškození in vitro. Buňky pocházejí z renálních podocytů transgenního pozadí H2Kb-tsA58 „Immortomouse“ a nesou teplotně citlivý systém velkého T antigenu SV40 (SV40LT), který umožňuje řízené přepínání mezi stavy proliferace a diferenciaci.

Za příznivých růstových podmínek se buňky MPC-5 obvykle kultivují při **teplotě 33 °C** v přítomnosti **interferonu-γ**, který podporuje proliferaci řízenou SV40LT. K indukci diferenciaci se buňky přesunou na **37 °C** a interferon-γ se odstraní, což vede k zastavení růstu a získání podocytových znaků. Během diferenciaci procházejí buňky MPC-5 výraznou reorganizací cytoskeletu a tvorbou výběžků; WT1 je běžně detekován ve všech stavech, zatímco exprese synaptopodinu je spojena s diferencovaným fenotypem. Funkčně bylo prokázáno, že diferencované buňky reagují na bradykinin intracelulární vápníkovou signalizací, což podporuje jejich použití jako modelu signalizace podocytů.

MPC-5 se často používá v mechanistických studiích dynamiky cytoskeletu podocytů, remodelace adheze/kontaktu a buněčných stresových reakcí. Tato linie je také široce používána pro modely poškození podocytů relevantní pro diabetické onemocnění ledvin, kde se běžně využívá expozice vysoké hladině glukózy k modelování oxidačního, zánětlivého a apoptotického stresu a ke sledování podocytárních parametrů (např. WT1 a markery spojené se štěrbinovou membránou jako experimentální koncové body). Kromě toho byly v podmínkách poškození MPC-5 studovány molekulární regulační vrstvy; například bylo popsáno, že miR-204-3p moduluje dysfunkci indukovanou vysokou hladinou glukózy tím, že se zaměřuje na signální dráhu bradykininového B2 receptoru (Bdkrb2).

Organism

Myš

Tissue

Ledviny

Disease

Normální

Synonyms

MPC-5, Myší podocytový klon-5

Charakteristika

Breed/Subspecies

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

Age

Nespecifikováno

Gender

Nespecifikováno

Cell type

Podocyty

Buňky MPC5 | 305481

Growth properties	Adherentní
--------------------------	------------

Regulační údaje

Citation	MPC5 (katalogové číslo Cytion 305481)
-----------------	---------------------------------------

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

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

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

Biomolekulární data

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

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
--------------------	--------------------------

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

Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.
----------------------	--

Buňky MPC5 | 305481**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky MPC5 | 305481

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.