

MPC5-cellen | 305481

Algemene informatie

Description

MPC-5 (ook bekend als „MPC5“ of „Mouse Podocyte Clone-5“) is een voorwaardelijk onsterfelijk gemaakte muizenpodocytenlijn die op grote schaal wordt gebruikt voor het bestuderen van podocyten-differentiatie en beschadigingsmechanismen in vitro. De cellen zijn afkomstig van nierpodocyten van een transgene H2Kb-tsA58 'Immortomouse'-achtergrond en dragen een temperatuurgevoelig SV40 large T-antigeen (SV40LT)-systeem dat een gecontroleerde omschakeling tussen proliferatie- en differentiatiestaten mogelijk maakt.

Onder permissieve groeiomstandigheden worden MPC-5-cellen doorgaans gekweekt bij **33 °C** in aanwezigheid van **interferon-γ**, wat de door SV40LT aangestuurde proliferatie ondersteunt. Om differentiatie te induceren, worden de cellen overgebracht naar **37 °C** en wordt interferon-γ verwijderd, wat leidt tot groeistilstand en het verwerven van podocytenachtige kenmerken. Tijdens differentiatie ondergaan MPC-5-cellen een uitgesproken reorganisatie van het cytoskelet en de vorming van uitsteeksels; WT1 wordt doorgaans in alle stadia gedetecteerd, terwijl de expressie van synaptopodine geassocieerd is met het gedifferentieerde fenotype. Functioneel is aangetoond dat gedifferentieerde cellen reageren op bradykinine met intracellulaire calciumsignaleringsmodel ondersteunt.

MPC-5 wordt vaak toegepast in mechanistische studies van de dynamica van het podocyten-cytoskelet, hermodellering van adhesie/contact en cellulaire stressreacties. De lijn wordt ook op grote schaal gebruikt voor podocytenbeschadigingsparadigma's die relevant zijn voor diabetesische nierziekte, waarbij blootstelling aan hoge glucosespiegels vaak wordt gebruikt om oxidatieve, inflammatoire en apoptotische stress te modelleren en om podocytenuitkomsten te monitoren (bijv. WT1 en slit-diafragma-geassocieerde markers als experimentele eindpunten). Daarnaast zijn moleculaire regulerende lagen bestudeerd in MPC-5-letselsituaties; zo is bijvoorbeeld gemeld dat miR-204-3p door de bradykinine B2-receptor (Bdkrb2)-route te beïnvloeden, door hoge glucoseconcentraties veroorzaakte disfunctie moduleert.

Organism Muis

Tissue Nieren

Disease Normaal

Synonyms MPC-5, Muis Podocytenkloon-5

Kenmerken

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

Age Ongespecificeerd

Gender Ongespecificeerd

Cell type Podocyten

MPC5-cellen | 305481

Growth properties	Aanhangend
--------------------------	------------

Regelgevende gegevens

Citation	MPC5 (Cytion catalogusnummer 305481)
-----------------	--------------------------------------

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

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

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

Biomoleculaire gegevens

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

Omgaan met

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
--------------------	--------------------------------

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

Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.
----------------------	--

MPC5-cellen | 305481

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

MPC5-cellen | 305481

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.