

MPC5-celler | 305481

Generell informasjon

Description

MPC-5 (også kjent som «MPC5» eller «Mouse Podocyte Clone-5») er en betinget immortalisert podocytcellerlinje fra mus som er mye brukt til å studere podocytt-differensiering og skademekanismer in vitro. Cellene stammer fra nyre-podocytter med en transgen H2Kb-tsA58 «Immortomouse»-bakgrunn og bærer et temperaturfølsomt SV40 large T-antigen (SV40LT)-system som muliggjør kontrollert veksling mellom proliferasjons- og differensieringstilstander.

Under gunstige vekstforhold dyrkes MPC-5-celler vanligvis ved **33 °C** i nærvær av **interferon- γ** , som støtter SV40LT-drevet proliferasjon. For å indusere differensiering flyttes cellene til **37 °C** og interferon- γ fjernes, noe som fører til vekststans og utvikling av podocyttilignende egenskaper. Under differensieringen gjennomgår MPC-5-celler en markant omorganisering av cytoskelettet og dannelse av prosesser; WT1 påvises vanligvis i alle tilstander, mens uttrykk av synaptopodin er assosiert med den differensierte fenotypen. Funksjonelt har det vist seg at differensierte celler reagerer på bradykinin med intracellulær kalsiumsignaler, noe som støtter bruken av dem som en podocyttsignalmodell.

MPC-5 brukes ofte i mekanistiske studier av podocytters cytoskeletale dynamikk, omforming av adhesjon/kontakt og cellulære stressresponser. Linjen brukes også i stor utstrekning til paradigmer for podocytteskade som er relevante for diabetisk nyresykdom, der eksponering for høyt glukosenivå ofte benyttes for å modellere oksidativt, inflammatorisk og apoptotisk stress og for å overvåke podocyttemålinger (f.eks. WT1 og slit-diafragma-assosierte markører som eksperimentelle endepunkter). I tillegg har molekylære regulatoriske lag blitt studert i MPC-5-skadesettinger; for eksempel er det rapportert at miR-204-3p modulerer høyt glukoseindusert dysfunksjon ved å målrette bradykinin B2-reseptor (Bdkrb2)-banen.

Organism

Mus

Tissue

Nyre

Disease

Normal

Synonyms

MPC-5, Podocyttklon-5 fra mus

Kjennetegn

Breed/Subspecies

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

Age

Uspesifisert

Gender

Uspesifisert

Cell type

Podocyt

Growth properties

Vedhengende

MPC5-celler | 305481

Regulatoriske data

Citation	MPC5 (Cytion-katalognummer 305481)
-----------------	------------------------------------

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

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

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

Biomolekylære data

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

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
--------------------	-----------------------------

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

Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.
----------------------	---

MPC5-celler | 305481

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

MPC5-celler | 305481

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.