

Komórki MPC5 | 305481

Informacje ogólne

Description

MPC-5 (znana również jako „MPC5” lub „Mouse Podocyte Clone-5”) to warunkowo unieśmiertelniona linia komórkowa mysim podocytów, szeroko stosowana do badania różnicowania podocytów oraz mechanizmów uszkodzeń in vitro. Komórki pochodzą z podocytów nerkowych myszy transgenicznej o tle genetycznym H2Kb-tsA58 „Immortomouse” i posiadają wrażliwy na temperaturę system dużego antygeny T wirusa SV40 (SV40LT), który umożliwia kontrolowane przełączanie między stanami proliferacji i różnicowania.

W sprzyjających warunkach wzrostu komórki MPC-5 są zazwyczaj hodowane w temperaturze **33 °C** w obecności **interferonu-γ**, który wspiera proliferację stymulowaną przez SV40LT. Aby wywołać różnicowanie, komórki przenosi się do temperatury **37 °C** i usuwa interferon-γ, co prowadzi do zatrzymania wzrostu i nabycia cech charakterystycznych dla podocytów. Podczas różnicowania komórki MPC-5 ulegają wyraźnej reorganizacji cytoszkieletu i tworzeniu wypustek; WT1 jest powszechnie wykrywalny we wszystkich stanach, podczas gdy ekspresja synaptopodiny jest związana z fenotypem zróżnicowanym. Pod względem funkcjonalnym wykazano, że zróżnicowane komórki reagują na bradykininę sygnalizacją wewnątrzkomórkową wapnia, co potwierdza ich przydatność jako modelu sygnalizacji podocytów.

MPC-5 jest często stosowana w badaniach mechanistycznych dotyczących dynamiki cytoszkieletu podocytów, przebudowy adhezji/kontaktu oraz komórkowych odpowiedzi na stres. Linia ta jest również szeroko stosowana w modelach uszkodzeń podocytów związanych z cukrzycową chorobą nerek, gdzie ekspozycja na wysokie stężenie glukozy jest powszechnie wykorzystywana do modelowania stresu oksydacyjnego, zapalnego i apoptycznego oraz do monitorowania odczytów podocytów (np. WT1 i markerów związanych z błoną szczelinową jako punktów końcowych eksperymentu). Ponadto w warunkach uszkodzenia MPC-5 badano molekularne warstwy regulacyjne; na przykład doniesiono, że miR-204-3p moduluje dysfunkcję wywołaną wysokim stężeniem glukozy poprzez oddziaływanie na szlak receptora bradykininy B2 (Bdkrb2).

Organism

Mysz

Tissue

Nerka

Disease

Normalny

Synonyms

MPC-5, mysi klon podocytów-5

Charakterystyka

Breed/Subspecies

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

Age

Nieokreślony

Gender

Nieokreślony

Cell type

Podocyt

Komórki MPC5 | 305481

Growth properties	Adherent
--------------------------	----------

Dane regulacyjne

Citation	MPC5 (numer katalogowy Cytion 305481)
-----------------	---------------------------------------

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

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

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

Dane biomolekularne

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

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
--------------------	---------------------------

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

Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.
----------------------	---

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

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki MPC5 | 305481

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.