

Células MPC5 | 305481

Informações gerais

Description

A MPC-5 (também conhecida como «MPC5» ou «Clone de Podócitos de Rato-5») é uma linha celular de podócitos de rato imortalizada condicionalmente, amplamente utilizada para estudar a diferenciação dos podócitos e os mecanismos de lesão in vitro. As células têm origem nos podócitos renais de um fundo transgênico H2Kb-tsA58 “Immortomouse” e possuem um sistema de antígeno T grande do SV40 (SV40LT) sensível à temperatura que permite a alternância controlada entre os estados de proliferação e diferenciação.

Em condições de crescimento permissivas, as células MPC-5 são tipicamente expandidas a **33 °C** na presença de **interferão-γ**, o que favorece a proliferação induzida pelo SV40LT. Para induzir a diferenciação, as células são transferidas para **37 °C** e o interferão-γ é removido, levando à paragem do crescimento e à aquisição de características semelhantes às dos podócitos. Durante a diferenciação, as células MPC-5 sofrem uma reorganização pronunciada do citoesqueleto e a formação de processos; o WT1 é comumente detectado em todos os estados, enquanto a expressão de sinaptopodina está associada ao fenótipo diferenciado. Funcionalmente, demonstrou-se que as células diferenciadas respondem à bradicinina com sinalização de cálcio intracelular, o que sustenta a sua utilização como modelo de sinalização de podócitos.

A MPC-5 é frequentemente aplicada em estudos mecanísticos da dinâmica do citoesqueleto dos podócitos, remodelação da adesão/contacto e respostas celulares ao stress. A linha é também amplamente utilizada para paradigmas de lesão podocitária relevantes para a doença renal diabética, onde a exposição a níveis elevados de glicose é comumente empregada para modelar o stress oxidativo, inflamatório e apoptótico e para monitorizar os parâmetros dos podócitos (por exemplo, WT1 e marcadores associados ao diafragma de fenda como parâmetros experimentais). Além disso, as camadas reguladoras moleculares têm sido estudadas em contextos de lesão da MPC-5; por exemplo, foi relatado que o miR-204-3p modula a disfunção induzida por níveis elevados de glicose ao atuar sobre a via do recetor B2 da bradicinina (Bdkrb2).

Organism Rato

Tissue Rim

Disease Normal

Synonyms MPC-5, Clone de podócitos de ratinho-5

Caraterísticas

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

Age Não especificado

Gender Não especificado

Cell type Podocitos

Células MPC5 | 305481

Growth properties	Aderente
--------------------------	----------

Dados regulamentares

Citation	MPC5 (número de catálogo Cytion 305481)
-----------------	---

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

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

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

Dados biomoleculares

Viruses	Transformante: Vírus símio 40 (SV40)
----------------	--------------------------------------

Manuseamento

Culture Medium	RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO ₃ (número de artigo Cytion 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Completar o meio com 10% de FBS
--------------------	---------------------------------

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

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.
----------------------	---

Células MPC5 | 305481

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células MPC5 | 305481

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.