

Celice MPC5 | 305481

Splošne informacije

Description

MPC-5 (znana tudi kot »MPC5« ali »Mouse Podocyte Clone-5«) je pogojno nesmrtna celična linija podocitov miši, ki se pogosto uporablja za preučevanje diferenciacije podocitov in mehanizmov poškodb in vitro. Celice izvirajo iz ledvičnih podocitov transgenega ozadja H2Kb-tsA58 »Immortomouse« in nosijo temperaturno občutljiv sistem velikega T-antigena SV40 (SV40LT), ki omogoča nadzorovano preklapljanje med stanji proliferacije in diferenciacije.

V ugodnih ravnih pogojih se celice MPC-5 običajno razmnožujejo pri **33 °C** v prisotnosti **interferona-γ**, ki podpira proliferacijo, pogojeno s SV40LT. Za indukcijo diferenciacije se celice prestavijo na **37 °C** in se odstrani interferon-γ, kar vodi do zaustavitve rasti in pridobitve značilnosti, podobnih podocitom. Med diferenciacijo celice MPC-5 doživijo izrazito reorganizacijo citoskeletne strukture in nastanek procesov; WT1 se običajno zazna v vseh stanjih, medtem ko je izražanje sinaptopodina povezano z diferenciranim fenotipom. Funkcionalno je bilo dokazano, da se diferencirane celice odzivajo na bradikinin z intracelularnim kalcijevim signaliziranjem, kar podpira njihovo uporabo kot model signaliziranja podocitov.

MPC-5 se pogosto uporablja v mehanističnih študijah dinamike citoeskeleta podocitov, preoblikovanja adhezije/stika in celičnih odzivov na stres. Linija se široko uporablja tudi za paradigme poškodb podocitov, povezane z diabetično boleznijo ledvic, kjer se pogosto uporablja izpostavljenost visoki ravni glukoze za modeliranje oksidativnega, vnetnega in apoptičnega stresa ter za spremljanje odčitkov podocitov (npr. WT1 in markerji, povezani s špranjso membrano, kot eksperimentalni končni točki). Poleg tega so bile v okviru poškodb MPC-5 proučevane molekularne regulativne plasti; na primer, poroča se, da miR-204-3p modulira disfunkcijo, ki jo povzroča visoka raven glukoze, tako da deluje na pot bradikinovega B2 receptorja (Bdkrb2).

Organism

Miška

Tissue

Ledvice

Disease

Normalno

Synonyms

MPC-5, klon mišjih podocitov 5

Značilnosti

Breed/Subspecies

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

Age

Neopredeljeno

Gender

Neopredeljeno

Cell type

Podociti

Growth properties

Pripadajoče

Celice MPC5 | 305481

Regulativni podatki

Citation	MPC5 (kataloška številka Cytion 305481)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_AS87

Biomolekularni podatki

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

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (številka izdelka Cytion 820700a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Celice MPC5 | 305481

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice MPC5 | 305481

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.