

Клетки MDCK (NBL-2) | 602280

Обща информация

Description

Клетките MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) служат като основен ин витро модел във фармацевтичните науки, особено при изучаването на епителния транспорт, епителната пропускливост и като инструмент за оценка на мембранната пропускливост. Тези клетки, първоначално получени от бъбречни тубулни клетки на куче, проявяват свойства, близки до ентоцитите, което ги прави отличен модел за скрининг на абсорбцията и надеждна клетъчна линия за оценка на механизмите на лекарствения транспорт.

MDCK клетките се използват за изследване на морфогенезата на разклоненията - процес, който е от решаващо значение за разбирането на развитието на органите и клетъчната диференциация. Тази способност за сложна организация подчертава значението им за изучаване на архитектурата на епителната тъкан и клетъчното натрупване.

MDCK клетките са добре познати заради способността си да образуват плътни, поляризиращи епителни слоеве, което ги прави ценен модел за изучаване на епителната бариерна функция и клетъчната поляризираност, превръщайки ги в незаменим модел за системи за пренасяне на лекарства и изучаване на вътрешната мембранна пропускливост. Наличието на апикални мембрани и добре дефинирани клетъчни връзки в монослойните MDCK клетки улеснява подробните експерименти за пропускливост, като подобрява разбирането ни за трансепителната секреция и транспортните и метаболитните функции, присъщи на епителните клетки.

В областта на вирусологията MDCK клетките са от основно значение за изследване на човешки грипни вируси, като щама H3N2, тъй като те експресират рецептори, съвместими с тези вируси. Това ги прави ключов ресурс за изследване на тънкостите на вирусните инфекции, като се проучва как епителните клетки реагират на вирусните предизвикателства. Тяхната полезност се разпростира върху оценката на антивирусни агенти и ваксини, което допълнително подчертава значението им в изследванията на инфекциозните заболявания и разработването на терапии.

В обобщение, MDCK клетките са безценни във фармацевтичните и вирусологичните изследвания поради техните епителни характеристики, изследвания на транспорта и полезност в моделите на вирусни инфекции, особено за грипните вируси, което ги прави незаменими за напредъка в разбирането ни за доставката на лекарства, епителната биология и инфекциозните заболявания.

Organism Кучешки

Tissue Бъбреци

Synonyms MDCK, NBL-2, бъбрек на куче от породата Мадин-Дарби, бъбрек на куче от породата Мадин-Дарби

Характеристики

Breed/Subspecies Кокер шпаньол

Age Възрастни

Gender Жена

Клетки MDCK (NBL-2) | 602280

Morphology	Подобни на епител
Cell type	Епителиален
Growth properties	Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation	MDCK (NBL-2) (каталожен номер 602280 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9615
CellosaurusAccession	CVCL_0422

Биомолекулярни данни

Virus susceptibility	Везикуларен стоматит (Индиана), ваксина, коксакивирус В5, реовирус 2, 3, аденовирус 4, 5, везикуларна екзантема при свинете, инфекциозен кучешки хепатит
Virus resistance	Полиовирус 2, коксакивирус В3, В4
Reverse transcriptase	Отрицателен
Products	Кератин

Работа с

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (номер на изделието на Cytion 820400a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Клетки MDCK (NBL-2) | 602280

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Seeding density 1×10^4 клетки/cm²

Fluid renewal На всеки 3 дни

Post-Thaw Recovery След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/cm² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки MDCK (NBL-2) | 602280

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки MDCK (NBL-2) | 602280

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.