

Buňky MDCK (NBL-2) | 602280**Obecné informace****Description**

Buňky MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) slouží jako klíčový model in vitro ve farmaceutických vědách, zejména při studiu epiteliálního transportu, epiteliální permeability a jako nástroj pro hodnocení membránové propustnosti. Tyto buňky, původně odvozené z ledvinových tubulů psů, vykazují vlastnosti podobné enterocytům, což z nich činí vynikající model pro screening absorpce a spolehlivou buněčnou linii pro hodnocení mechanismů transportu léčiv.

Buňky MDCK se používají ke zkoumání morfogeneze větvení, což je proces zásadní pro pochopení vývoje orgánů a buněčné diferenciaci. Tato schopnost komplexní organizace podtrhuje jejich význam při studiu architektury epitelových tkání a buněčné akumulace.

Buňky MDCK jsou dobře známé pro svou schopnost vytvářet těsné, polarizované epiteliální vrstvy, což z nich činí cenný model pro studium funkce epiteliální bariéry a buněčné polarity, což z nich činí nepostradatelný model pro systémy nosičů léčiv a studium vnitřní propustnosti membrán. Přítomnost apikálních membrán a dobře definovaných buněčných spojů v monovrstvách buněk MDCK usnadňuje podrobné experimenty s propustností, což zlepšuje naše znalosti o transepiteliální sekreci a transportních a metabolických funkcích vlastních epiteliálních buňkám.

Ve virologii jsou buňky MDCK klíčové pro studium lidských chřipkových virů, jako je kmen H3N2, protože exprimují receptory kompatibilní s těmito viry. Díky tomu jsou klíčovým zdrojem pro zkoumání složitosti virových infekcí a zkoumání toho, jak epiteliální buňky reagují na virové výzvy. Jejich užitečnost se rozšiřuje na hodnocení antivirových látek a vakcín, což dále zdůrazňuje jejich význam ve výzkumu infekčních onemocnění a vývoji léčebných postupů.

Lze shrnout, že buňky MDCK jsou neocenitelné ve farmaceutickém a virologickém výzkumu pro své epiteliální vlastnosti, studie transportu a užitečnost v modelech virových infekcí, zejména u chřipkových virů, což z nich činí nepostradatelné buňky při prohlubování našich znalostí o dodávkách léčiv, biologii epitelu a infekčních onemocněních.

Organism Psi**Tissue** Ledviny**Synonyms** MDCK, NBL-2, Madin-Darby Canine Kidney, Madin Darby Canine Kidney**Charakteristika****Breed/Subspecies** Kokršpaněl**Age** Dospělí**Gender** Ženy**Morphology** Epitelu podobné

Buňky MDCK (NBL-2) | 602280**Cell type** Epitelové**Growth properties** Monovrstva, adherentní**Regulační údaje****Citation** MDCK (NBL-2) (katalogové číslo Cytion 602280)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9615**CellosaurusAccession** CVCL_0422**Biomolekulární data****Virus susceptibility** Vesikulární stomatitida (Indiana), vakcína, coxsackievirus B5, reovirus 2, 3, adenovirus 4, 5, vezikulární exantém prasat, infekční hepatitida psů**Virus resistance** Poliovirus 2, coxsackievirus B3, B4**Reverse transcriptase** Negativní**Products** Keratin**Zpracování****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Buňky MDCK (NBL-2) | 602280

Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se hustota výsevu 10 000 buněk/cm ² Pokud se buňky dělí bez počítání buněk, buňky MDCK snášejí poměr dělení 1:4
Seeding density	1 x 10 ⁴ buněk/cm ²
Fluid renewal	Každé 3 dny
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste buňky v množství 5 x 10 ⁴ buněk/cm ² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky MDCK (NBL-2) | 602280**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.**Flask Coating**

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky MDCK (NBL-2) | 602280

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x