

Κύτταρα MDCK (NBL-2) | 602280

Γενικές πληροφορίες

Description

Τα κύτταρα MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) χρησιμεύουν ως βασικό βιτρομοντέλο στις φαρμακευτικές επιστήμες, ιδίως στη μελέτη της επιθηλιακής μεταφοράς, της επιθηλιακής διαπερατότητας και ως εργαλείο για την αξιολόγηση της διαπερατότητας των μεμβρανών. Τα κύτταρα αυτά, που προέρχονται αρχικά από νεφρικά σωληναριακά κύτταρα του σκύλου, παρουσιάζουν ιδιότητες που μοιάζουν με τα εντεροκύτταρα, γεγονός που τα καθιστά ένα εξαιρετικό μοντέλο διαλογής απορρόφησης και μια αξιόπιστη κυτταρική σειρά για την αξιολόγηση των μηχανισμών μεταφοράς φαρμάκων.

Τα κύτταρα MDCK χρησιμοποιούνται για τη διερεύνηση της μορφογένεσης των διακλαδώσεων, μια διαδικασία ζωτικής σημασίας για την κατανόηση της ανάπτυξης οργάνων και της κυτταρικής διαφοροποίησης. Αυτή η ικανότητα πολύπλοκης οργάνωσης υπογραμμίζει τη σημασία τους στη μελέτη της αρχιτεκτονικής των επιθηλιακών ιστών και της κυτταρικής συσσώρευσης.

Τα κύτταρα MDCK διακρίνονται για την ικανότητά τους να σχηματίζουν στεγανά, πολωμένα επιθηλιακά στρώματα, γεγονός που τα καθιστά πολύτιμο μοντέλο για τη μελέτη της λειτουργίας του επιθηλιακού φραγμού και της κυτταρικής πολικότητας, καθιστώντας τα απαραίτητο μοντέλο για τα συστήματα μεταφοράς φαρμάκων και τη μελέτη της εγγενούς διαπερατότητας των μεμβρανών. Η παρουσία ακραίων μεμβρανών και καλά καθορισμένων κυτταρικών συνδέσμων στις μονοστρώσεις κυττάρων MDCK διευκολύνει τα λεπτομερή πειράματα διαπερατότητας, ενισχύοντας την κατανόηση της διαπεπτιδικής έκκρισης και των λειτουργιών μεταφοράς και μεταβολισμού που είναι εγγενείς στα επιθηλιακά κύτταρα.

Στην ιολογία, τα κύτταρα MDCK έχουν καθοριστική σημασία για τη μελέτη των ιών της ανθρώπινης γρίπης, όπως το στέλεχος H3N2, επειδή εκφράζουν υποδοχείς συμβατούς με τους ιούς αυτούς. Αυτό τα καθιστά βασική πηγή για τη διερεύνηση των περιπλοκών των ιικών λοιμώξεων, εξετάζοντας τον τρόπο με τον οποίο τα επιθηλιακά κύτταρα αντιδρούν στις ιικές προκλήσεις. Η χρησιμότητά τους επεκτείνεται στην αξιολόγηση αντιικών παραγόντων και εμβολίων, υπογραμμίζοντας περαιτέρω τη σημασία τους στην έρευνα για τις λοιμώδεις νόσους και τη θεραπευτική ανάπτυξη.

Συνοπτικά, τα κύτταρα MDCK είναι ανεκτίμητα στη φαρμακευτική και ιολογική έρευνα για τα επιθηλιακά χαρακτηριστικά τους, τις μελέτες μεταφοράς και τη χρησιμότητά τους σε μοντέλα ιογενών λοιμώξεων, ιδίως για τους ιούς της γρίπης, καθιστώντας τα απαραίτητα για την προώθηση της κατανόησης της χορήγησης φαρμάκων, της επιθηλιακής βιολογίας και των λοιμωδών νοσημάτων.

Organism Σκύλος

Tissue Νεφρός

Synonyms MDCK, NBL-2, Madin-Darby Canine Kidney, Madin Darby Canine Kidney

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies Cocker Spaniel

Age Ενηλίκων

Κύτταρα MDCK (NBL-2) | 602280

Gender	Γυναίκα
Morphology	Επιθηλιοειδής
Cell type	Επιθηλιακό
Growth properties	Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	MDCK (NBL-2) (αριθμός καταλόγου Cytion 602280)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9615
CellosaurusAccession	CVCL_0422

Βιομοριακά δεδομένα

Virus susceptibility	Κυστική στοματίτιδα (Indiana), εμβολιασμός, ιός coxsackievirus B5, ιοί reovirus 2, 3, αδενοϊός 4, 5, φυσαλιδώδες εξάνθημα χοίρων, λοιμώδης ηπατίτιδα σκύλων
Virus resistance	Ιός της πολιομυελίτιδας 2, coxsackievirus B3, B4
Reverse transcriptase	Αρνητικό
Products	Κερατίνη

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820400a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Κύτταρα MDCK (NBL-2) | 602280

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Seeding density 1×10^4 κύτταρα/cm²

Fluid renewal Κάθε 3 ημέρες

Post-Thaw Recovery Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5×10^4 κύτταρα/cm² και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

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

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα MDCK (NBL-2) | 602280

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.