

MDCK-II rakud | 305233

Üldine teave

Description

Madin-Darby Canine Kidney tüüp II (MDCK-II) rakud on epiteelirakuliin, mis on saadud täiskasvanud emase cocker spanieli neerudest. Neid rakke kasutatakse laialdaselt biomeditsiinilistes uuringutes tänu nende ainulaadsele võimele moodustada tihedaid ühendusi ja polariseeritud monokihti, mis on epiteelikudedele iseloomulikud tunnused. MDCK-II rakkudel on tugevad kasvu- ja diferentseerumisomadused, mis teeb neist suurepärase mudeli epiteelirakkude bioloogia, sealhulgas rakupolaarsuse, transpordiprotsesside ja barjäärifunktsiooni uurimiseks

MDCK-II rakuliin on eriti väärtuslik viiruse ja peremehe vastastikmõju mehhanismide uurimiseks, eriti gripiviiruse uurimisel. Rakkude võime moodustada polariseeritud monokihti muudab nad ideaalseks viiruste suunalise vabanemise ja leviku uurimiseks. Lisaks kasutatakse MDCK-II rakke sageli ravimite transpordi ja toksilisuse uuringutes, kuna nende hästi määratletud tihedad ühendused pakuvad usaldusväärset mudelit epiteelirakkude läbilaskvuse ja barjäärifunktsiooni hindamiseks. Nende reageerimisvõime erinevatele kasvufaktoritele ja hormoonidele suurendab veelgi nende kasulikkust mitmesugustes teadusuuringutes

Teadlased kasutavad MDCK-II rakke ka neerufüsioloogia ja patofüsioloogia uurimiseks, arvestades nende päritolu neerukoos. See rakuliin annab ülevaate neeru epiteelirakkude funktsioonist, sealhulgas ioonitranspordist, vedeliku regulatsioonist ja rakkude reaktsioonist vigastustele. Üldiselt on MDCK-II rakud mitmekülgne ja oluline vahend epiteelirakkude bioloogia ja sellega seotud biomeditsiiniliste valdkondade uurimisel

Organism Koerad

Tissue Neerud

Synonyms MDCK II, MDCKII, MDCK2, MDCK-2, MDCK tüüp II, MDCKII-WT

Omadused

Breed/Subspecies Cocker-spanjel

Age Täiskasvanud

Gender Naised

Cell type Epiteel

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

MDCK-II rakud | 305233

Citation	MDCK-II (Cytioni katalooginumber 305233)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9615
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_0424
-----------------------------	-----------

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
-----------------------	---

Supplements	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga
--------------------	---------------------------------------

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

Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
---------------------	---

Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.
----------------------	--

MDCK-II rakud | 305233

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

MDCK-II rakud | 305233

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.