

MDCK (NBL-2) rakud | 602280

Üldine teave

Description

MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) rakud on farmaatsiateadustes oluline vitro mudel, eriti epiteeli transpordi ja epiteeli läbilaskvuse uurimisel ning membraani läbilaskvuse hindamise vahendina. Need rakud, mis on algselt saadud koera neeru tubulirakkudest, omavad enterotsüütidega sarnaseid omadusi, mis teeb neist suurepärase imendumise sõeluuringu mudeli ja usaldusväärse rakuliini ravimite transpordimehhanismide hindamiseks.

MDCK rakke kasutatakse hargnemismorfogeneesi uurimiseks, mis on elundite arengu ja rakkude diferentseerumise mõistmiseks ülioluline protsess. See võime kompleksseks organiseerumiseks rõhutab nende tähtsust epiteelkoe arhitektuuri ja rakkude akumulatsiooni uurimisel.

MDCK rakud on tuntud oma võime poolest moodustada tihedaid, polariseeritud epiteelikihte, mis muudab nad väärtuslikuks mudeliks epiteeli barjääri funktsiooni ja rakkude polaarsuse uurimiseks, mistõttu on nad asendamatu mudel ravimikandjate süsteemide ja membraani sisemise läbilaskvuse uurimiseks. Apikaalsete membraanide ja hästi määratletud rakuliidete olemasolu MDCK rakkude monokihis hõlbustab üksikasjalikke läbilaskvuse katseid, parandades meie arusaamist transepiteliaalsest sekretsioonist ning epiteelirakkudele omastest transpordi- ja ainevahetusfunktsioonidest.

Viroloogias on MDCK-rakud olulised inimese gripiviiruste, näiteks H3N2-tüve uurimiseks, sest nad ekspresseerivad nende viirustega ühilduvaid retseptoreid. Seetõttu on nad peamine ressurs viirusinfektsioonide keerukuse uurimiseks, uurides, kuidas epiteelirakud reageerivad viiruslikele väljakutsetele. Nende kasulikkus laieneb ka viirusevastaste ainete ja vaktsiinide hindamisele, mis rõhutab veelgi nende tähtsust nakkushaiguste uurimisel ja ravimiarenduses.

Kokkuvõttes on MDCK rakud hindamatu väärtusega farmaatsia- ja virooloogilistes uuringutes nende epiteeli omaduste, transpordiuuringute ja kasulikkuse tõttu viirusinfektsiooni mudelites, eriti gripiviiruste puhul, mis muudab nad asendamatuks meie arusaamade edendamisel ravimite manustamisest, epiteelibioloogiast ja nakkushaigustest.

Organism Koerad

Tissue Neerud

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

Omadused

Breed/Subspecies Cocker-spanjel

Age Täiskasvanud

Gender Naised

Morphology Epiteelilaadsed

MDCK (NBL-2) rakud | 602280

Cell type	Epiteel
------------------	---------

Growth properties	Monokihiline, kleepuv
--------------------------	-----------------------

Regulatiivsed andmed

Citation	MDCK (NBL-2) (Cytioni katalooginumber 602280)
-----------------	---

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

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

CellosaurusAccession	CVCL_0422
-----------------------------	-----------

Biomolekulaarsed andmed

Virus susceptibility	Vesikulaarne stomatiit (Indiana), vaktsiinia, koksackiiviirus B5, reoviirus 2, 3, adenoviirus 4, 5, sigade vesikulaarne eksanteem, koerte nakkuslik hepatiit
-----------------------------	--

Virus resistance	Polioviirus 2, koksackieviirus B3, B4
-------------------------	---------------------------------------

Reverse transcriptase	Negatiivne
------------------------------	------------

Products	Keratiin
-----------------	----------

Töötlemine

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820400a)
-----------------------	--

Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
--------------------	-----------------------------

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

MDCK (NBL-2) rakud | 602280

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.

Seeding density 1×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal Iga 3 päeva tagant

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

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 (NBL-2) rakud | 602280

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 (NBL-2) rakud | 602280

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.