

MDCK (NBL-2) sejtek | 602280

Általános információk

Description

Az MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) sejtek kulcsfontosságú vitro modellként szolgálnak a gyógyszerészeti tudományokban, különösen a hámtranszport és a hám átteresztőképességének tanulmányozásában, valamint a membránpermeabilitás értékelésének eszközeként. Ezek a sejtek, amelyek eredetileg kutyavese tubulus sejtjeiből származnak, az enterocitákhoz hasonló tulajdonságokkal rendelkeznek, így kiváló abszorpciós szűrőmodellnek és megbízható sejtvonalként bizonyulnak a gyógyszer-transzport mechanizmusok értékeléséhez.

Az MDCK sejteket az elágazó morfogenezis, a szervfejlődés és a sejt differenciálódás megértéséhez elengedhetetlen folyamat feltárására használják. Ez a komplex szerveződésre való képességük aláhúzza jelentőségüket a hámszöveti architektúra és a sejtek felhalmozódásának tanulmányozásában.

Az MDCK-sejtek jól ismertek a szoros, polarizált hámrétegek kialakítására való képességük miatt, ami értékes modellt teszi őket az epithelialis barrierfunkció és a sejt polaritás tanulmányozására, így a gyógyszerhordozó rendszerek és a belső membránpermeabilitás tanulmányozásának nélkülözhetetlen modelljévé válnak. Az apikális membránok és a jól definiált sejtkapcsolatok jelenléte az MDCK sejtmonolayerekben megkönnyíti a részletes permeabilitási kísérletek elvégzését, ami javítja a transepithelialis szekréció, valamint a hámsejtekben rejlő transzport- és metabolikus funkciók megértését.

A virológiában az MDCK-sejtek kulcsfontosságúak az emberi influenzavírusok, például a H3N2 törzs tanulmányozásában, mivel e vírusokkal kompatibilis receptorokat expresszálnak. Ezáltal kulcsfontosságú forrássá válnak a vírusfertőzések bonyolultságának vizsgálatához, annak vizsgálatához, hogy a hámsejtek hogyan reagálnak a vírus okozta kihívásokra. Hasznosságuk kiterjed a vírusellenes szerek és vakcinák értékelésére is, ami tovább hangsúlyozza jelentőségüket a fertőző betegségek kutatásában és a terápiás fejlesztésben.

Összefoglalva, az MDCK sejtek felbecsülhetetlen értéket képviselnek a gyógyszerészeti és virológiai kutatásokban epithelialis tulajdonságaik, transzportvizsgálataik és vírusfertőzési modellekben való hasznosságuk miatt, különösen az influenzavírusok esetében, ami nélkülözhetetlenné teszi őket a gyógyszeradagolás, az epithelialis biológia és a fertőző betegségek megértésének előmozdításában.

Organism Kutyák

Tissue Vese

Synonyms MDCK, NBL-2, Madin-Darby kutyavese, Madin-Darby kutyavese, Madin-Darby kutyavese

Jellemzők

Breed/Subspecies Cocker spániel

Age Felnőtt

Gender Női

MDCK (NBL-2) sejtek | 602280

Morphology	Epithelszerű
Cell type	Epithelialis
Growth properties	Monoréteg, tapadó

Szabályozási adatok

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

Biomolekuláris adatok

Virus susceptibility	Hólyagos szájgyulladás (Indiana), vakcina, coxsackievirus B5, reovírus 2, 3, adenovírus 4, 5, sertés hólyagos exantémája, fertőző kutyahepatitis
Virus resistance	Poliovírus 2, coxsackievirus B3, B4
Reverse transcriptase	Negatív
Products	Keratin

A kezelése

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nátrium-piruvát, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820400a cikkszám)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase

MDCK (NBL-2) sejtek | 602280

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Seeding density 1×10^4 sejt/cm²

Fluid renewal 3 naponta

Post-Thaw Recovery Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

MDCK (NBL-2) sejtek | 602280

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

MDCK (NBL-2) sejtek | 602280

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatói módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.