

MDCK (NBL-2) ląstelės | 602280

Bendra informacija

Description

MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) ląstelės yra pagrindinis vitro modelis farmacijos moksluose, ypač tiriant epitelio pernašą, epitelio pralaidumą ir kaip priemonė membranų pralaidumui įvertinti. Šios ląstelės, kilusios iš šunų inkstų kanalėlių ląstelių, pasižymi savybėmis, panašiomis į enterocitus, todėl jos yra puikus absorbcijos patikros modelis ir patikima ląstelių linija vaistų pernašos mechanizmams vertinti.

MDCK ląstelės naudojamos tiriant šakojimosi morfogenezę - procesą, kuris labai svarbus norint suprasti organų vystymąsi ir ląstelių diferenciaciją. Šis gebėjimas sudėtingai organizuoti pabrėžia jų svarbą tiriant epitelinių audinių architektūrą ir ląstelių kaupimąsi.

MDCK ląstelės gerai vertinamos dėl gebėjimo formuoti glaudžius, poliarizuotus epitelio sluoksnius, todėl jos yra vertingas modelis epitelio barjero funkcijai ir ląstelių poliarškumui tirti, todėl jos yra nepakeičiamas vaistų nešiklių sistemų ir vidinio membranų pralaidumo tyrimų modelis. MDCK ląstelių monosluoksniuose esančios viršūninės membranos ir gerai apibrėžtos ląstelių jungtys palengvina išsamius pralaidumo eksperimentus, todėl geriau suprantame transepitelio sekreciją ir epitelinėms ląstelėms būdingas pernašos bei medžiagų apykaitos funkcijas.

Virusologijoje MDCK ląstelės yra labai svarbios tiriant žmogaus gripo virusus, pavyzdžiui, H3N2 padermę, nes jos išreiškia su šiais virusais suderinamus receptorių. Dėl to jos yra pagrindinis šaltinis tiriant virusinių infekcijų subtilybes, nagrinėjant, kaip epitelinės ląstelės reaguoja į virusų keliamus iššūkius. Jų nauda apima ir antivirusinių vaistų bei vakcinų vertinimą, o tai dar labiau pabrėžia jų svarbą infekcinių ligų tyrimams ir terapijos kūrimui.

Apibendrinant galima teigti, kad MDCK ląstelės yra neįkainojamos farmacijos ir virusologiniuose tyrimuose dėl jų epitelio savybių, pernašos tyrimų ir naudingumo virusinės infekcijos modeliams, ypač gripo virusams, todėl jos yra nepakeičiamos gerinant vaistų pristatymo, epitelio biologijos ir infekcinių ligų supratimą.

Organism Šunys

Tissue Inkstai

Synonyms MDCK, NBL-2, Madino-Darbio šunų inkstai, Madino-Darbio šunų inkstai

Charakteristikos

Breed/Subspecies Kokerspanielis

Age Suaugusiųjų

Gender Moteris

Morphology Į epitelį panašus

Cell type Epitelis

MDCK (NBL-2) ląstelės | 602280

Growth properties Viensluoksnis, prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation MDCK (NBL-2) (Cytion katalogo numeris 602280)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9615

CellosaurusAccession CVCL_0422

Biomolekuliniai duomenys

Virus susceptibility Vezikulinis stomatitas (Indiana), vakcinija, koksackio virusas B5, reovirusas 2, 3, adenovirusas 4, 5, kiaulių vezikulinė egzantema, infekcinis šunų hepatitas

Virus resistance Poliovirusas 2, Koksackio virusas B3, B4

Reverse transcriptase Neigiamas

Products Keratinas

Tvarkymas

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

MDCK (NBL-2) ląstelės | 602280**Seeding density** 1×10^4 ląstelės/cm²**Fluid renewal** Kas 3 dienas**Post-Thaw Recovery** Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5×10^4 ląstelių/cm² tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.**Thawing and Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švari vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra priglundusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, drėkintoje atmosferoje.

MDCK (NBL-2) ląstelės | 602280

Flask Coating Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.