

## MDCK (NBL-2) šūnas | 602280

## Vispārīga informācija

## Description

MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) šūnas kalpo kā galvenais vitro modelis farmācijas zinātnēs, jo īpaši epitēlija transporta, epitēlija caurlaidības un membrānu caurlaidības novērtēšanas pētījumos. Šīm šūnām, kas sākotnēji iegūtas no suņu nieru kanāliņu šūnām, piemīt īpašības, kas līdzīgas enterocītiem, padarot tās par lielisku absorbcijas skrīninga modeli un uzticamu šūnu līniju zāļu transporta mehānismu novērtēšanai.

MDCK šūnas tiek izmantotas, lai pētītu sazarojumu morfogēzi, kas ir būtisks process, lai izprastu orgānu attīstību un šūnu diferenciaciju. Šī sarežģītās organizācijas spēja uzsver to nozīmi epitēlija audu arhitektūras un šūnu uzkrāšanās pētniecībā.

MDCK šūnas ir labi zināmas ar savu spēju veidot ciešus, polarizētus epitēlija slāņus, padarot tās par vērtīgu modeli epitēlija barjeras funkcijas un šūnu polaritātes pētīšanai, padarot tās par neaizstājamu modeli zāļu nesēju sistēmām un iekšējās membrānu caurlaidības pētījumiem. Apikālo membrānu un labi definētu šūnu savienojumu klātbūtne MDCK šūnu monoslāņos atvieglo detalizētus caurlaidības eksperimentus, uzlabojot mūsu izpratni par transepitēļa sekrēciju un epitēlija šūnām raksturīgajām transporta un vielmaiņas funkcijām.

Viroloģijā MDCK šūnas ir ļoti svarīgas cilvēka gripas vīrusu, piemēram, H3N2 celma, izpētei, jo tās ekspresē ar šiem vīrusiem saderīgus receptorus. Tas padara tās par galveno resursu, lai pētītu vīrusu infekciju niāses, pārbaudot, kā epitēlija šūnas reaģē uz vīrusu izraisītajām problēmām. To lietderība paplašinās, lai novērtētu pretvīrusu līdzekļus un vakcīnas, vēl vairāk uzsverot to nozīmi infekcijas slimību pētniecībā un terapeitisko līdzekļu izstrādē.

Kopumā MDCK šūnas ir nenovērtējamas farmācijas un virusoloģiskajos pētījumos, jo tām piemīt epitēlija īpašības, transporta pētījumi un tās ir noderīgas vīrusu infekcijas modeļos, jo īpaši attiecībā uz gripas vīrusiem, padarot tās neaizstājamās, lai uzlabotu mūsu izpratni par zāļu piegādi, epitēlija bioloģiju un infekcijas slimībām.

**Organism** Suņu

**Tissue** Nieres

**Synonyms** MDCK, NBL-2, Madin-Darby Canine nieres, Madin Darby Canine nieres

## Raksturojums

**Breed/Subspecies** Kokerspaniels

**Age** Pieaugušo

**Gender** Sievietes

**Morphology** Epitēlijveidīgs

**Cell type** Epitēlija

## MDCK (NBL-2) šūnas | 602280

**Growth properties** Vienslāņa, adhēzija

**Normatīvie dati**

**Citation** MDCK (NBL-2) (Cytion kataloga numurs 602280)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9615

**CellosaurusAccession** CVCL\_0422

**Biomolekulārie dati**

**Virus susceptibility** Vezikulārais stomatīts (Indiana), vakcīnija, koksackie vīruss B5, reovīruss 2, 3, adenovīruss 4, 5, cūku vezikulārā eksantēma, suņu infekciozais hepatīts

**Virus resistance** Poliovīruss 2, koksackie vīruss B3, B4

**Reverse transcriptase** Negatīvs

**Products** Keratīns

**Darbs ar**

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)

**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

**MDCK (NBL-2) šūnas | 602280****Seeding density** 1 x 10<sup>4</sup> šūnas/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** Ik pēc 3 dienām**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izkļiedijiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5 x 10<sup>4</sup> šūnas/cm<sup>2</sup> un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.**Thawing and Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5%<sub>CO2</sub>, mitrināta atmosfēra.

## MDCK (NBL-2) šūnas | 602280

**Flask Coating** Neviens

### Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.