

Komórki MDCK-II | 305233

Informacje ogólne

Description

Komórki Madin-Darby Canine Kidney typu II (MDCK-II) są nabłonkową linią komórkową pochodzącą z nerki dorosłej samicy cocker spaniela. Komórki te są szeroko stosowane w badaniach biomedycznych ze względu na ich unikalną zdolność do tworzenia ścisłych połączeń i spolaryzowanych monowarstw, które są charakterystycznymi cechami tkanek nabłonkowych. Komórki MDCK-II wykazują silne właściwości wzrostu i różnicowania, co czyni je doskonałym modelem do badania biologii komórek nabłonkowych, w tym polaryzacji komórek, procesów transportu i funkcji barierowych

Linia komórkowa MDCK-II jest szczególnie cenna do badania mechanizmów interakcji wirus-gospodarz, zwłaszcza w badaniach nad wirusem grypy. Zdolność komórek do tworzenia spolaryzowanych monowarstw czyni je idealnymi do badania kierunkowego uwalniania i rozprzestrzeniania się wirusów. Dodatkowo, komórki MDCK-II są często wykorzystywane w badaniach nad transportem i toksycznością leków, ponieważ ich dobrze zdefiniowane połączenia ścisłe stanowią wiarygodny model do oceny przepuszczalności i funkcji barierowej komórek nabłonkowych. Ich wrażliwość na różne czynniki wzrostu i hormony dodatkowo zwiększa ich użyteczność w różnych zastosowaniach badawczych

Naukowcy wykorzystują również komórki MDCK-II do badania fizjologii i patofizjologii nerek, biorąc pod uwagę ich pochodzenie z tkanki nerkowej. Ta linia komórkowa zapewnia wgląd w funkcje komórek nabłonkowych nerek, w tym transport jonów, regulację płynów i reakcje komórkowe na urazy. Ogólnie rzecz biorąc, komórki MDCK-II są wszechstronnym i niezbędnym narzędziem w badaniu biologii komórek nabłonkowych i powiązanych dziedzin biomedycznych

Organism

Pies

Tissue

Nerka

Disease

Normal kidney epithelium

Applications

Virology; epithelial transport studies; tight junction research; drug permeability assays; cell biology

Synonyms

MDCK II, MDCKII, MDCK2, MDCK-2, MDCK typu II, MDCKII-WT

Charakterystyka

Breed/Subspecies

Cocker Spaniel

Age

Dorosły

Gender

Kobieta

Morphology

Epithelial-like

Komórki MDCK-II | 305233**Cell type** Nabłonek**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** MDCK-II (numer katalogowy Cytion 305233)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9615**CellosaurusAccession** CVCL_0424**GMO Status** No genetic modification; wildtype cell line**Dane biomolekularne****Obsługa****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)**Supplements** Uzupetnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** approx. 16-20 hours**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** 1 to 5**Seeding density** 2 to 5 x 10⁴ cells/cm²

Komórki MDCK-II | 305233**Fluid renewal** 2 to 3 times per week**Freeze medium**

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.**Flask Coating**

Brak

Komórki MDCK-II | 305233

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.