

**Komórki MDCK (NBL-2) | 602280****Informacje ogólne****Description**

Komórki MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) służą jako kluczowy model in vitro w naukach farmaceutycznych, szczególnie w badaniach transportu nabłonkowego, przepuszczalności nabłonka oraz jako narzędzie do oceny przepuszczalności błon. Komórki te, pierwotnie pochodzące z komórek kanalików nerkowych psów, wykazują właściwości podobne do enterocytów, co czyni je doskonałym modelem do badań przesiewowych absorpcji i niezawodną linią komórkową do oceny mechanizmów transportu leków.

Komórki MDCK są wykorzystywane do badania morfogenezy rozgałęzień, procesu kluczowego dla zrozumienia rozwoju narządów i różnicowania komórkowego. Ta zdolność do złożonej organizacji podkreśla ich znaczenie w badaniu architektury tkanki nabłonkowej i akumulacji komórek.

Komórki MDCK są dobrze znane ze swojej zdolności do tworzenia szczelnych, spolaryzowanych warstw nabłonkowych, co czyni je cennym modelem do badania funkcji bariery nabłonkowej i polaryzacji komórek, co czyni je niezbędnym modelem dla systemów nośników leków i badania wewnętrznej przepuszczalności błon. Obecność błon wierzchołkowych i dobrze zdefiniowanych połączeń komórkowych w monowarstwach komórek MDCK ułatwia szczegółowe eksperymenty przepuszczalności, zwiększając nasze zrozumienie wydzielania przez nabłonek oraz funkcji transportowych i metabolicznych właściwych komórkom nabłonkowym.

W wirusologii komórki MDCK odgrywają kluczową rolę w badaniu ludzkich wirusów grypy, takich jak szczep H3N2, ponieważ wyrażają receptory kompatybilne z tymi wirusami. To sprawia, że są one kluczowym zasobem do badania zawitości infekcji wirusowych, badając, jak komórki nabłonkowe reagują na wyzwania wirusowe. Ich użyteczność rozciąga się na ocenę środków przeciwwirusowych i szczepionek, co dodatkowo podkreśla ich znaczenie w badaniach nad chorobami zakaźnymi i rozwoju terapeutycznym.

Podsumowując, komórki MDCK są nieocenione w badaniach farmaceutycznych i wirusologicznych ze względu na ich właściwości nabłonkowe, badania transportu i użyteczność w modelach infekcji wirusowych, szczególnie w przypadku wirusów grypy, co czyni je niezbędnymi w pogłębianiu naszej wiedzy na temat dostarczania leków, biologii nabłonka i chorób zakaźnych.

**Organism** Pies**Tissue** Nerka**Synonyms** MDCK, NBL-2, Madin-Darby Canine Kidney, Madin Darby Canine Kidney**Charakterystyka****Breed/Subspecies** Cocker Spaniel**Age** Dorosły**Gender** Kobieta**Morphology** Podobny do nabłonka

**Komórki MDCK (NBL-2) | 602280**

<b>Cell type</b>	Nabłonek
<b>Growth properties</b>	Monowarstwa, przylegająca

**Dane regulacyjne**

<b>Citation</b>	MDCK (NBL-2) (numer katalogowy Cytion 602280)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9615
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0422

**Dane biomolekularne**

<b>Virus susceptibility</b>	Pęcherzykowe zapalenie jamy ustnej (Indiana), krowianka, coxsackievirus B5, reowirus 2, 3, adenowirus 4, 5, pęcherzykowa wysypka świń, zakaźne zapalenie wątroby psów
<b>Virus resistance</b>	Poliowirus 2, wirus Coxsackie B3, B4
<b>Reverse transcriptase</b>	Negatywny
<b>Products</b>	Keratyna

**Obsługa**

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO <sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820400a)
<b>Supplements</b>	Uzupełnić podłoże 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase

**Komórki MDCK (NBL-2) | 602280**

<b>Subculturing</b>	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. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
<b>Split ratio</b>	Zaleca się gęstość wysiewu 10 000 komórek/cm <sup>2</sup> . Jeśli komórki są dzielone bez liczenia komórek, stosunek podziału 1:4 jest tolerowany przez komórki MDCK.
<b>Seeding density</b>	1 x 10 <sup>4</sup> komórek/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	Co 3 dni
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5 x 10 <sup>4</sup> komórek/cm <sup>2</sup> i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć do podłoża.
<b>Freeze medium</b>	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.

**Komórki MDCK (NBL-2) | 602280****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  $-150^{\circ}\text{C}$ , 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  $37^{\circ}\text{C}$  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 zawieszonych, 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**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

**Flask Coating**

Brak

**Freezing  
Procedure**

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

## Komórki MDCK (NBL-2) | 602280

### 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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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 wykluczane 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.

### Profil STR

**Amelogenin:** x,x