

**Células MDCK (NBL-2) | 602280****Informações gerais****Description**

As células MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) são um modelo vitro fundamental nas ciências farmacêuticas, nomeadamente no estudo do transporte epitelial, da permeabilidade epitelial e como ferramenta para a avaliação da permeabilidade das membranas. Estas células, originalmente derivadas de células tubulares renais de um canino, apresentam propriedades semelhantes às dos enterócitos, o que as torna um excelente modelo de rastreio da absorção e uma linha celular fiável para avaliar os mecanismos de transporte de fármacos.

As células MDCK são utilizadas para explorar a morfogénese ramificada, um processo crucial para compreender o desenvolvimento dos órgãos e a diferenciação celular. Esta capacidade de organização complexa sublinha a sua importância no estudo da arquitetura do tecido epitelial e da acumulação celular.

As células MDCK são bem conhecidas pela sua capacidade de formar camadas epiteliais apertadas e polarizadas, o que as torna um modelo valioso para o estudo da função de barreira epitelial e da polaridade celular, tornando-as um modelo indispensável para sistemas de transporte de fármacos e para o estudo da permeabilidade intrínseca da membrana. A presença de membranas apicais e de junções celulares bem definidas nas monocamadas de células MDCK facilita experiências de permeabilidade pomenorizadas, melhorando a nossa compreensão da secreção transepitelial e das funções de transporte e metabólicas inerentes às células epiteliais.

Em virologia, as células MDCK são essenciais para o estudo dos vírus da gripe humana, como a estirpe H3N2, porque expressam receptores compatíveis com esses vírus. Isto torna-as um recurso fundamental para investigar os meandros das infecções virais, examinando a forma como as células epiteliais reagem aos desafios virais. A sua utilidade estende-se à avaliação de agentes antivirais e vacinas, realçando ainda mais a sua importância na investigação de doenças infecciosas e no desenvolvimento terapêutico.

Em resumo, as células MDCK têm um valor inestimável na investigação farmacêutica e virológica devido às suas características epiteliais, estudos de transporte e utilidade em modelos de infeção viral, particularmente para os vírus da gripe, o que as torna indispensáveis para fazer avançar a nossa compreensão da administração de medicamentos, da biologia epitelial e das doenças infecciosas.

**Organism** Caninos**Tissue** Rim**Synonyms** MDCK, NBL-2, rim canino de Madin-Darby, rim canino de Madin Darby**Caraterísticas****Breed/Subspecies** Cocker Spaniel**Age** Adulto**Gender** Feminino

**Células MDCK (NBL-2) | 602280**

<b>Morphology</b>	De tipo epitelial
<b>Cell type</b>	Epitelial
<b>Growth properties</b>	Monocamada, aderente

**Dados regulamentares**

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

**Dados biomoleculares**

<b>Virus susceptibility</b>	Estomatite vesicular (Indiana), vaccinia, coxsackievirus B5, reovirus 2, 3, adenovirus 4, 5, exantema vesicular do suíno, hepatite infecciosa canina
<b>Virus resistance</b>	Poliovírus 2, coxsackievírus B3, B4
<b>Reverse transcriptase</b>	Negativo
<b>Products</b>	Queratina

**Manuseamento**

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO <sub>3</sub> (número de artigo Cytion 820400a)
<b>Supplements</b>	Completar o meio com 10% de FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase

## Células MDCK (NBL-2) | 602280

**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** A cada 3 dias

**Post-Thaw Recovery** Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de  $5 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## Células MDCK (NBL-2) | 602280

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

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

### Flask Coating

Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células MDCK (NBL-2) | 602280

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.