

Клетки MDBK (NBL-1) | 600396

Обща информация

Description

Клетките MDBK, съкратено от Madin-Darby Bovine Kidney cells (известни също като NBL-1), са изключителен биологичен ресурс, получен от бъбреците на видимо здрави възрастни животни от породата *Bos taurus*, по-специално мъжки индивиди. Тези клетки растат адхезивно и притежават епителиална морфология.

Едно от забележителните приложения на клетките MDBK се състои в способността им да улесняват *in vitro* изследванията на експресията на антигени, получени от *Eimeria bovis*, върху мембраната на повърхността на клетките на гостоприемника.

Освен това MDBK клетките са използвани в изследвания, съсредоточени върху убиквитирането и разграждането на сигнален трансдюсер и активатор на транскрипцията 1 и 2 (STAT1 и STAT2) от V протеините на парамиксовируси, като симиански вирус 5 и човешки парагрипен вирус тип 2.

Със средно време на удвояване, вариращо от 24 до 35 часа, клетките MDBK показват умерена степен на пролиферация. Създаването на клетъчната линия MDBK датира от 18 февруари 1957 г., когато S.H. Madin и N.B. Darby успешно я получават от бъбреците на здрава възрастна котка. Оттогава насам тези клетки се превръщат в крайгълен камък в биологичните изследвания, позволявайки многобройни пробиви в различни научни области.

Анализът на кариотипа на MDBK клетките разкрива модален брой хромозоми от 51, което показва хиподиплоидно състояние. В рамките на клетъчната популация хиподиплоидното състояние се проявява като хромозомен брой на стволите хромозоми $2n = 60$, като 2S компонент се среща в приблизително 5 % от клетките. Освен това обикновено са налице 11-14 маркерни хромозоми, включващи комбинация от метацентрични, субметацентрични и акро-телоцентрични хромозоми. Забележително е, че X хромозомата изглежда монозомна, докато не се наблюдават HSR хромозоми или DM (двойни минути).

MDBK клетките имат редица приложения в областта на биологичните изследвания. Тяхната полезност се простира до 3D клетъчни култури, което позволява на учените да пресъздават сложни тъканни структури за напреднали изследвания. Освен това MDBK клетките са безценни при високопроизводителните скрининги, като улесняват бързото и ефективно изследване на съединения или агенти за различни цели. Освен това тези клетки играят ключова роля в токсикологичните изследвания, които са от съществено значение за оценката на безопасността и потенциалните неблагоприятни ефекти на веществата върху живите организми.

Що се отнася до вирусната чувствителност, клетките MDBK демонстрират възприемчивост към няколко патогена, включително вируса на везикуларния стоматит Орсе (Индиана), вируса на инфекциозния ринотрахеит по говедата, вируса на ринотрахеита по говедата, парвовируса по говедата, аденовируса по говедата 2 и 3, вируса на вирусната диария по говедата 1 и вируса на парагрипна треска. Тази чувствителност към разнообразни вируси прави клетките MDBK безценни за изследване на вирусната патогенеза и оценка на антивирусните стратегии.

Organism Говеда

Tissue Бъбреци

Synonyms MDBK (NBL-1), NBL-1, бъбрек от говеждо месо на Мадин-Дарби, бъбрек от говеждо месо на Мадин-Дарби

Клетки MDBK (NBL-1) | 600396

Характеристики

Breed/Subspecies	Bos taurus
Age	Възрастни
Gender	Мъжки
Morphology	Подобни на епител
Growth properties	Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation	MDBK (NBL-1) (каталожен номер 600396 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9913
CellosaurusAccession	CVCL_0421

Биомолекулярни данни

Viruses	Линията е тествана и е доказано, че е свободна от вируса на диария по говедата (BVD).
Virus susceptibility	Клетките са чувствителни към вируса на диарията по говедата, везикуларния стоматит (щам Индиана), вируса на инфекциозния ринотрахеит по говедата, говеджия парвовирус, говеджите аденовируси I и III и парагрипния вирус 3.
Virus resistance	Полиовирус 2
Reverse transcriptase	Отрицателен
Products	Кератин

Работа с

Клетки MDBK (NBL-1) | 600396

Culture Medium MEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Seeding density 1×10^4 клетки/cm²

Fluid renewal На всеки 3 дни

Post-Thaw Recovery Бърз

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки MDBK (NBL-1) | 600396**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки MDBK (NBL-1) | 600396

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.