

Buňky MDBK (NBL-1) | 600396**Obecné informace****Description**

Buňky MDBK, zkratka pro buňky Madin-Darby Bovine Kidney (známé také jako NBL-1), jsou výjimečným biologickým zdrojem získaným z ledvin zjevně zdravých dospělých jedinců *Bos taurus*, konkrétně samců. Tyto buňky rostou adherentně a mají morfologii podobnou epitelu.

Jedno z pozoruhodných využití buněk MDBK spočívá v jejich schopnosti usnadnit in vitro studie exprese antigenů odvozených od *Eimeria bovis* na povrchové membráně hostitelských buněk. Kromě toho byly buňky MDBK použity při výzkumech zaměřených na ubikvitinaci a degradaci signálních přenašečů a aktivátorů transkripce 1 a 2 (STAT1 a STAT2) proteiny v paramyxovirů, jako je simian virus 5 a lidský virus parainfluenzy typu 2. Tyto buňky byly také použity pro výzkumy, které se týkaly ubiquitinace a degradace proteinů v paramyxovirů, jako je simian virus 5 a virus lidské parainfluenzy typu 2.

Buňky MDBK s průměrnou dobou zdvojení v rozmezí 24 až 35 hodin vykazují střední míru proliferace. Vznik buněčné linie MDBK se datuje od 18. února 1957, kdy ji S. H. Madin a N. B. Darby úspěšně získali z ledviny zdravého dospělého vola. Od té doby se tyto buňky staly základním kamenem biologického výzkumu a umožnily řadu průlomových objevů v různých vědních oborech.

Analýza karyotypu buněk MDBK ukazuje modální počet chromozomů 51, což svědčí o hypodiploidním stavu. V rámci buněčné populace se hypodiploidní stav projevuje jako kmenové číslo chromozomů $2n = 60$, přičemž složka 2S se vyskytuje přibližně u 5 % buněk. Kromě toho je obvykle přítomno 11-14 markerových chromozomů, které zahrnují kombinaci metacentrických, submetacentrických a akrotelocentrických chromozomů. Pozoruhodné je, že chromozom x se jeví jako monozomický, zatímco nejsou pozorovány žádné HSR chromozomy ani DM (dvojitě minuty).

Buňky MDBK vykazují řadu aplikací v oblasti biologického výzkumu. Jejich užitečnost se rozšiřuje na 3D buněčné kultury, které vědcům umožňují vytvářet složité struktury podobné tkáním pro pokročilé studie. Kromě toho jsou buňky MDBK neocenitelné při vysokokapacitním screeningu, který usnadňuje rychlý a účinný screening sloučenin nebo látek pro různé účely. Kromě toho hrají tyto buňky zásadní roli v toxikologických studiích, které jsou nezbytné pro hodnocení bezpečnosti a potenciálních nežádoucích účinků látek na živé organismy. Pokud jde o citlivost k virům, buňky MDBK vykazují vnímavost k několika patogenům, včetně viru vezikulární stomatitidy Orsay (Indiana), viru infekční bovinní rinotracheitidy, viru bovinní rinotracheitidy, bovinního parvoviru, bovinního adenoviru 2 a 3, viru bovinní virové diarhoey 1 a viru parainfluenzy tří. Tato citlivost k různým virům činí buňky MDBK neocenitelnými pro zkoumání virové patogeneze a hodnocení antivirových strategií.

Organism Hovězí dobytek

Tissue Ledviny

Synonyms MDBK (NBL-1), NBL-1, Madin-Darby Bovine Kidney, Madin Darby Bovine Kidney

Charakteristika

Breed/Subspecies *Bos taurus*

Buňky MDBK (NBL-1) | 600396

Age	Dospělí
Gender	Muži
Morphology	Epitelu podobné
Growth properties	Monovrstva, adherentní

Regulační údaje

Citation	MDBK (NBL-1) (katalogové číslo Cytion 600396)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9913
CellosaurusAccession	CVCL_0421

Biomolekulární data

Viruses	Linie byla testována a ukázalo se, že je prostá viru průjmu skotu (BVD).
Virus susceptibility	Buňky jsou citlivé na virus bovinního průjmu, vezikulární stomatitidu (kmen Indiana), virus infekční bovinní rinotracheitidy, bovinní parvovirus, bovinní adenovirus I a III a virus parainfluenzy 3.
Virus resistance	Poliovirus 2
Reverse transcriptase	Negativní
Products	Keratin

Zpracování

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO ₃ , w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA

Buňky MDBK (NBL-1) | 600396**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:2 až 1:4**Seeding density** 1×10^4 buněk/cm²**Fluid renewal** Každé 3 dny**Post-Thaw Recovery** Rychle**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky MDBK (NBL-1) | 600396

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky MDBK (NBL-1) | 600396

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.