

MDBK (NBL-1) rakud | 600396

Üldine teave

Description

MDBK rakud, lühend Madin-Darby Bovine Kidney rakud (tuntud ka kui NBL-1), on erakordne bioloogiline ressurss, mis on saadud näiliselt tervete täiskasvanud Bos tauruse, eriti isaste isendite neerudest. Need rakud kasvavad adherentselt ja neil on epiteelilaadne morfoloogia.

MDBK rakkude üks märkimisväärseid rakendusi seisneb selles, et nende abil on võimalik teha in vitro uuringuid Eimeria bovis'e antigeenide ekspressiooni kohta peremeesraku pinnamembraanil.

Lisaks on MDBK rakke kasutatud uuringutes, mis keskenduvad signaali transkriptsiooni muunduri ja aktivaatori 1 ja 2 (STAT1 ja STAT2) ubikvitinatsioonile ja lagundamisele paramüxoviiruste, näiteks simian virus five ja inimese parainfriinaviiruse tüüp 2, V valkude poolt.

MDBK rakud, mille keskmine kahekordistumisaeg on 24-35 tundi, on mõõdukalt proliferatiivsed. MDBK rakuliini loomine pärineb 18. veebruarist 1957, kui S.H. Madin ja N.B. Darby tuletasid selle edukalt terve täiskasvanud härja neerust. Sellest ajast alates on neist rakkudest saanud bioloogiliste uuringute nurgakivi, mis on võimaldanud arvukaid läbimurdeid erinevates teadusvaldkondades.

MDBK rakkude karyotüübi analüüs näitab, et nende modaalne kromosoomide arv on 51, mis viitab hüpodiploidsele seisundile. Rakupopulatsiooni sees väljendub hüpodiploidne seisund tüvirida kromosoomide arvuna $2n = 60$, kusjuures 2S-komponent esineb ligikaudu 5%-l rakkudest. Lisaks on tavaliselt 11-14 markerkromosoomi, mis koosnevad metatsentriliste, submetatsentriliste ja akrotelotsentriliste kromosoomide kombinatsioonist. Eelkõige on x-kromosoom monosoomne, samas kui HSR-kromosoomid või DM-d (topeltminutid) puuduvad.

MDBK rakkudel on mitmesuguseid rakendusi bioloogiliste uuringute valdkonnas. Nende kasulikkus ulatub 3D-rakukultuurini, mis võimaldab teadlastel luua keerukaid koearnaseid struktuure edasijõudnud uuringuteks. Lisaks sellele on MDBK rakud hindamatu väärtusega kõrge läbilaskevõimega sõeluuringutes, hõlbustades ühendite või ainete kiiret ja tõhusat sõelumist erinevatel eesmärkidel. Lisaks on neil rakkudel oluline roll toksikoloogiauuringutes, mis on olulised ainete ohutuse ja võimalike kahjulike mõjude hindamiseks elusorganismidele.

MDBK rakud on vastuvõtlikud mitmetele patogeenidele, sealhulgas Vesicular Stomatitis Orsay (Indiana) viirusele, veiste infektsioossele rinotrahheiidi viirusele, veiste rinotrahheiidi viirusele, veiste parvoviirusele, veiste adenoviirusele 2 ja 3, veiste viirusliku kõhulahtisuse viirusele 1 ja parainfriinaviirusele. Selline vastuvõtlikkus mitmesuguste viiruste suhtes muudab MDBK rakud hindamatuks viiruspatogeneesi uurimiseks ja viirusevastaste strateegiate hindamiseks.

Organism

Veised

Tissue

Neerud

Synonyms

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

Omadused

Breed/Subspecies

Bos taurus

MDBK (NBL-1) rakud | 600396**Age** Täiskasvanud**Gender** Mees**Morphology** Epiteelilaadsed**Growth properties** Monokihiline, kleepuv**Regulatiivsed andmed****Citation** MDBK (NBL-1) (Cytioni katalooginumber 600396)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9913**CellosaurusAccession** CVCL_0421**Biomolekulaarsed andmed****Viruses** Seda liini testiti ja see osutus veiste kõhulahtisuse viiruse (BVD) vabaks.**Virus susceptibility** Rakud on vastuvõtlikud veiste kõhulahtisuse viiruse, vesikulaarse stomatiidi (Indiana tüvi), veiste infektsioosse rinotraheidi viiruse, veiste parvoviiruse, veiste adenoviiruse I ja III ning parainfriinaviiruse 3 suhtes.**Virus resistance** Polioviirus 2**Reverse transcriptase** Negatiivne**Products** Keratiin**Töötlemine****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAaga

MDBK (NBL-1) rakud | 600396

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density 1×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal Iga 3 päeva tagant

Post-Thaw Recovery Kiire

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

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

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

MDBK (NBL-1) rakud | 600396

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.