

MDBK (NBL-1) sejtek | 600396

Általános információk

Description

Az MDBK sejtek, a Madin-Darby Bovine Kidney sejtek (más néven NBL-1) rövidítése, egy kivételes biológiai erőforrás, amely látszólag egészséges felnőtt Bos taurus, különösen hím egyedek veséjéből származik. Ezek a sejtek adhéziósan növekednek és epithelszerű morfológiával rendelkeznek.

Az MDBK sejtek egyik figyelemre méltó alkalmazása abban rejlik, hogy lehetővé teszik az Eimeria bovis-ből származó antigéneknek a gazdasejtek felszíni membránján történő expressziójának in vitro vizsgálatát. Az MDBK sejteket emellett olyan vizsgálatokban is alkalmazták, amelyek középpontjában a jelátvivő és a transzkripció aktivátor 1 és 2 (STAT1 és STAT2) ubikvitinációja és degradációja áll a paramyxovírusok V fehérjei által, mint például az ötös típusú simian vírus és a 2-es típusú humán parainfluenza vírus.

A 24 és 35 óra közötti átlagos megduplázódási idővel az MDBK sejtek mérsékelt proliferációs rátát mutatnak. Az MDBK sejtvonal létrehozása 1957. február 18-ra nyúlik vissza, amikor S.H. Madin és N.B. Darby sikeresen származtatta azt egy egészséges felnőtt ökor veséjéből. Azóta ezek a sejtek a biológiai kutatások sarokkövévé váltak, és számos áttörést tettek lehetővé a különböző tudományterületeken.

Az MDBK sejtek kariotípusának elemzése 51-es modális kromoszómaszámot mutat, ami hipodiploid állapotra utal. A sejtpopuláción belül a hipodiploid állapot $2n = 60$ kromoszómaszámú törzsvonal-kromoszómaszámában nyilvánul meg, a sejtek körülbelül 5%-ában 2S komponenssel. Ezenkívül jellemzően 11-14 marker kromoszóma van jelen, amelyek metacentrikus, szubmetacentrikus és akro-telocentrikus kromoszómák kombinációjából állnak. Figyelemre méltó, hogy az x kromoszóma monoszómikusnak tűnik, míg HSR kromoszómák vagy DM-ek (kettős percek) nem figyelhetők meg.

Az MDBK sejtek a biológiai kutatások területén számos alkalmazási lehetőséget kínálnak. Hasznosságuk kiterjed a 3D-s sejtkultúrára, lehetővé téve a tudósok számára, hogy komplex szövetszerű struktúrákat hozzanak létre a fejlett vizsgálatokhoz. Az MDBK sejtek továbbá felbecsülhetetlen értéket képviselnek a nagy áteresztőképességű szűrővizsgálatokban, megkönnyítve a vegyületek vagy hatóanyagok gyors és hatékony szűrését különböző célokra. Emellett ezek a sejtek döntő szerepet játszanak a toxikológiai vizsgálatokban, amelyek elengedhetetlenek az anyagok biztonságosságának és az élő szervezetekre gyakorolt lehetséges káros hatásainak értékeléséhez.

Ami a vírusérzékenységet illeti, az MDBK sejtek számos kórokozóval szemben mutatnak fogékonyságot, beleértve a Vesicular stomatitis Orsay (Indiana) vírust, a szarvasmarhák fertőző rhinotracheitis vírusát, a szarvasmarhák rhinotracheitis vírusát, a szarvasmarha parvovírust, a szarvasmarha adenovírus 2 és 3, a szarvasmarhák vírusos hasmenése 1 és a parainfluenza 3 vírust. Ez a vírusok sokféleségére való fogékonyság teszi az MDBK sejteket felbecsülhetlenné a vírus patogenezisének vizsgálatához és a vírusellenes stratégiák értékeléséhez.

Organism

Szarvasmarha

Tissue

Vese

Synonyms

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

Jellemzők

Breed/Subspecies

Bos taurus

MDBK (NBL-1) sejtek | 600396

Age	Felnőtt
------------	---------

Gender	Férfi
---------------	-------

Morphology	Epithelszerű
-------------------	--------------

Growth properties	Monoréteg, tapadó
--------------------------	-------------------

Szabályozási adatok

Citation	MDBK (NBL-1) (Cytion katalógusszám 600396)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9913
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_0421
-----------------------------	-----------

Biomolekuláris adatok

Viruses	A vonalat megvizsgálták, és kimutatták, hogy mentes a szarvasmarhák hasmenéses megbetegedésének vírusától (BVD).
----------------	--

Virus susceptibility	A sejtek fogékonyak a szarvasmarhák hasmenéses vírusára, a hólyagos szájgyulladásra (Indiana törzs), a szarvasmarhák fertőző rhinotracheitis vírusára, a szarvasmarhák parvovírusára, a szarvasmarhák I. és III. adenovírusára és a parainfluenza 3-as vírusára.
-----------------------------	--

Virus resistance	Poliovírus 2
-------------------------	--------------

Reverse transcriptase	Negatív
------------------------------	---------

Products	Keratin
-----------------	---------

A kezelése

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)
-----------------------	--

MDBK (NBL-1) sejtek | 600396

Supplements A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Seeding density 1×10^4 sejt/cm²

Fluid renewal 3 naponta

Post-Thaw Recovery Gyors

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

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

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

MDBK (NBL-1) sejtek | 600396

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.