

MDBK (NBL-1)-celler | 600396**Generell informasjon****Description**

MDBK-celler, en forkortelse for Madin-Darby Bovine Kidney-celler (også kjent som NBL-1), er en eksepsjonell biologisk ressurs som stammer fra nyrene til tilsynelatende friske voksne *Bos taurus*-okser, spesielt mannlige individer. Disse cellene vokser adherent og har en epitellignende morfologi.

En av de bemerkelsesverdige anvendelsene av MDBK-celler ligger i deres evne til å legge til rette for in vitro-studier av uttrykket av *Eimeria bovis*-avledede antigener på vertscellenes overflatemembran. I tillegg har MDBK-celler blitt brukt i undersøkelser av ubiquitinerings og nedbrytning av signal transducer and activator of transcription 1 og 2 (STAT1 og STAT2) av V-proteiner fra paramyxovirus, som simian virus five og humant parainfluenzavirus type 2.

MDBK-cellene har en gjennomsnittlig fordoblingstid på mellom 24 og 35 timer, og har en moderat proliferasjonshastighet. MDBK-cellelinjen ble etablert 18. februar 1957, da S.H. Madin og N.B. Darby lyktes med å avlede den fra nyrene til en frisk, voksen okse. Siden den gang har disse cellene blitt en hjørnestein i biologisk forskning, og de har muliggjort en rekke gjennombrudd innen ulike vitenskapelige felt.

Karyotypeanalysen av MDBK-celler viser et modalt kromosomnummer på 51, noe som indikerer en hypodiploid tilstand. I cellepopulasjonen manifesterer den hypodiploide tilstanden seg som et stamlinjekromosomtall på $2n = 60$, med en 2S-komponent som forekommer i omtrent 5 % av cellene. I tillegg er det vanligvis 11-14 markørkromosomer til stede, som består av en kombinasjon av metasentriske, submetasentriske og akro-telosentriske kromosomer. Spesielt x-kromosomet ser ut til å være monosomisk, mens ingen HSR-kromosomer eller DM-er (dobbelminutter) er observert.

MDBK-celler har en rekke bruksområder innen biologisk forskning. De kan blant annet brukes i 3D-cellekulturer, noe som gjør det mulig for forskere å gjenskape komplekse vevslignende strukturer for avanserte studier. MDBK-celler er dessuten uvurderlige i screening med høy gjennomstrømning, noe som muliggjør rask og effektiv screening av forbindelser eller stoffer til ulike formål. I tillegg spiller disse cellene en avgjørende rolle i toksikologiske studier, som er avgjørende for å evaluere stoffers sikkerhet og potensielle skadevirkninger på levende organismer.

Når det gjelder mottakelighet for virus, viser MDBK-celler at de er mottakelige for flere patogener, blant annet Vesicular stomatitis Orsay (Indiana)-virus, infeksøs bovin rhinotrakeittvirus, bovint rhinotrakeittvirus, bovint parvovirus, bovint adenovirus 2 og 3, bovint virusdiarévirus 1 og parainfluenza 3-virus. Denne mottakeligheten for et bredt spekter av virus gjør MDBK-celler uvurderlige for å undersøke viruspatogenese og evaluere antivirale strategier.

Organism Storfe**Tissue** Nyre**Synonyms** MDBK (NBL-1), NBL-1, Madin-Darby Bovine Kidney, Madin Darby Bovine Kidney**Kjennetegn****Breed/Subspecies** *Bos taurus*

MDBK (NBL-1)-celler | 600396**Age** Voksen**Gender** Mann**Morphology** Epitel-lignende**Growth properties** Monolag, vedheftende**Regulatoriske data****Citation** MDBK (NBL-1) (Cytion-katalognummer 600396)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9913**CellosaurusAccession** CVCL_0421**Biomolekylære data****Viruses** Linjen ble testet og viste seg å være fri for bovin diarévirus (BVD).**Virus susceptibility** Cellene er mottakelige for bovin diarévirus, vesikulær stomatitt (Indiana-stamme), infeksøs bovin rhinotrakeittvirus, bovin parvovirus, bovin adenovirus I og III, og parainfluenzavirus 3.**Virus resistance** Poliovirus 2**Reverse transcriptase** Negativ**Products** Keratin**Håndtering****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO₃, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA

MDBK (NBL-1)-celler | 600396**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** Et forhold på 1:2 til 1:4 anbefales**Seeding density** 1×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** Hver tredje dag**Post-Thaw Recovery** Rask**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

MDBK (NBL-1)-celler | 600396

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

MDBK (NBL-1)-celler | 600396

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.