

Komórki MDBK (NBL-1) | 600396**Informacje ogólne****Description**

Komórki MDBK, skrót od Madin-Darby Bovine Kidney (znane również jako NBL-1), są wyjątkowym zasobem biologicznym pochodzącym z nerek pozornie zdrowych dorosłych osobników *Bos taurus*, w szczególności samców. Komórki te rosną przylegająco i mają morfologię podobną do nabłonka.

Jednym z niezwykłych zastosowań komórek MDBK jest ich zdolność do ułatwiania badań *in vitro* nad ekspresją antygenów pochodzących z *Eimeria bovis* na błonie powierzchniowej komórek gospodarza. Dodatkowo, komórki MDBK zostały wykorzystane w badaniach skoncentrowanych na ubikwitynacji i degradacji transduktora sygnału i aktywatora transkrypcji 1 i 2 (STAT1 i STAT2) przez białka V paramyksowirusów, takich jak wirus sym sympansa 5 i ludzki wirus paragrypy typu 2.

Przy średnim czasie podwojenia wynoszącym od 24 do 35 godzin, komórki MDBK wykazują umiarkowany wskaźnik proliferacji. Powstanie linii komórkowej MDBK datuje się na 18 lutego 1957 roku, kiedy to S.H. Madin i N.B. Darby z powodzeniem wyprowadzili ją z nerki zdrowego dorosłego wołu. Od tego czasu komórki te stały się kamieniem węgielnym w badaniach biologicznych, umożliwiając liczne przełomy w różnych dziedzinach nauki.

Analiza kariotypu komórek MDBK ujawnia modalną liczbę chromosomów wynoszącą 51, co wskazuje na stan hipodiploidalny. W populacji komórek stan hipodiploidalny objawia się liczbą chromosomów macierzystych $2n = 60$, przy czym składnik 2S występuje w około 5% komórek. Co więcej, zwykle obecnych jest 11-14 chromosomów markerowych, obejmujących kombinację chromosomów metacentrycznych, submetacentrycznych i akro-telocentrycznych. Warto zauważyć, że chromosom x wydaje się monosomiczny, podczas gdy nie obserwuje się chromosomów HSR ani DM (podwójnych minut).

Komórki MDBK wykazują szereg zastosowań w dziedzinie badań biologicznych. Ich użyteczność rozciąga się na hodowlę komórek 3D, umożliwiając naukowcom odtwarzanie złożonych struktur przypominających tkanki do zaawansowanych badań. Co więcej, komórki MDBK są nieocenione w badaniach przesiewowych o wysokiej przepustowości, ułatwiając szybkie i wydajne badania przesiewowe związków lub środków do różnych celów. Dodatkowo, komórki te odgrywają kluczową rolę w badaniach toksykologicznych, niezbędnych do oceny bezpieczeństwa i potencjalnego niekorzystnego wpływu substancji na organizmy żywe.

Jeśli chodzi o podatność na wirusy, komórki MDBK wykazują wrażliwość na kilka patogenów, w tym wirusa pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej Orsay (Indiana), wirusa zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy bydła, wirusa zapalenia nosa i tchawicy bydła, parwowirusa bydła, adenowirusa bydła 2 i 3, wirusa wirusowej biegunki bydła 1 i wirusa paragrypy 3. Ta podatność na różnorodne wirusy sprawia, że komórki MDBK są nieocenione w badaniu patogenezy wirusów i ocenie strategii przeciwwirusowych.

Organism Bydło**Tissue** Nerka**Synonyms** MDBK (NBL-1), NBL-1, Madin-Darby Bovine Kidney, Madin Darby Bovine Kidney**Charakterystyka****Breed/Subspecies** *Bos taurus*

Komórki MDBK (NBL-1) | 600396

Age	Dorośli
Gender	Męczyzna
Morphology	Podobny do nabłonka
Growth properties	Monowarstwa, przylegająca

Dane regulacyjne

Citation	MDBK (NBL-1) (numer katalogowy Cytion 600396)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9913
CellosaurusAccession	CVCL_0421

Dane biomolekularne

Viruses	Linia została przetestowana i wykazano, że jest wolna od wirusa biegunki bydła (BVD).
Virus susceptibility	Komórki są wrażliwe na wirusa biegunki bydła, pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej (szczep Indiana), wirusa zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy bydła, parwowirusa bydła, adenowirusa bydła I i III oraz wirusa paragrypy 3.
Virus resistance	Poliowirus 2
Reverse transcriptase	Negatywny
Products	Keratyna

Obsługa

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA

Komórki MDBK (NBL-1) | 600396

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio Zalecany jest stosunek 1:2 do 1:4

Seeding density 1×10^4 komórek/cm²

Fluid renewal Co 3 dni

Post-Thaw Recovery Szybko

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki MDBK (NBL-1) | 600396

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki MDBK (NBL-1) | 600396

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.