

Celice MDBK (NBL-1) | 600396**Splošne informacije****Description**

Celice MDBK, kratica za Madin-Darby Bovine Kidney cells (znane tudi kot NBL-1), so izjemen biološki vir, pridobljen iz ledvic navidezno zdravih odraslih osebkov, zlasti samcev *Bos taurus*. Te celice rastejo adherentno in imajo epiteljsko morfologijo.

Ena od izjemnih aplikacij celic MDBK je njihova sposobnost, da olajšajo in vitro študije izražanja antigenov, ki izvirajo iz *Eimeria bovis*, na površinski membrani gostiteljskih celic.

Poleg tega so bile celice MDBK uporabljene v raziskavah, ki so se osredotočile na ubikvitinacijo in razgradnjo prenašalca signalov in aktivatorja transkripcije 1 in 2 (STAT1 in STAT2) s proteini V paramiksovirusov, kot sta virus pet simianov in virus človeške parainfluence tipa 2.

Celice MDBK s povprečnim podvojitvenim časom od 24 do 35 ur imajo zmerno stopnjo proliferacije. Celična linija MDBK je bila ustanovljena 18. februarja 1957, ko sta jo S.H. Madin in N.B. Darby uspešno pridobila iz ledvic zdravega odraslega vola. Od takrat so te celice postale temelj bioloških raziskav in omogočile številne preboje na različnih znanstvenih področjih.

Analiza kariotipa celic MDBK razkriva modalno število kromosomov 51, kar kaže na hipodiploidno stanje. V populaciji celic se hipodiploidno stanje kaže kot matično število kromosomov $2n = 60$, pri čemer se komponenta 2S pojavlja v približno 5 % celic. Poleg tega je običajno prisotnih 11-14 označevalnih kromosomov, ki vključujejo kombinacijo metacentričnih, submetacentričnih in akro-telocentričnih kromosomov. Kromosom x je monosomičen, medtem ko kromosomov HSR ali DM (dvojnih minut) ni opaziti.

Celice MDBK imajo številne možnosti uporabe na področju bioloških raziskav. Njihova uporabnost sega do 3D-celičnih kultur, ki znanstvenikom omogočajo poustvarjanje kompleksnih tkivnih struktur za napredne študije. Poleg tega so celice MDBK neprecenljive pri visoko zmogljivem presejanju, saj omogočajo hitro in učinkovito presejanje spojin ali sredstev za različne namene. Poleg tega imajo te celice ključno vlogo v toksikoloških študijah, ki so bistvene za ocenjevanje varnosti in morebitnih škodljivih učinkov snovi na žive organizme. Glede občutljivosti na viruse so celice MDBK dovzetne za več patogenov, vključno z virusom vezikularnega stomatitisa Orsay (Indiana), virusom infektivnega govejega rinotraheitisa, virusom govejega rinotraheitisa, govejim parvovirusom, govejim adenovirusom 2 in 3, virusom goveje virusne diareje 1 in virusom parainfluence tri. Zaradi te občutljivosti na različne viruse so celice MDBK neprecenljive za raziskovanje virusne patogeneze in ocenjevanje protivirusnih strategij.

Organism Govedo

Tissue Ledvice

Synonyms MDBK (NBL-1), NBL-1, goveja ledvica Madin-Darby, goveja ledvica Madin Darby

Značilnosti

Breed/Subspecies *Bos taurus*

Age Odrasli

Celice MDBK (NBL-1) | 600396**Gender** Moški**Morphology** Epitelijam podobni**Growth properties** Enoslojni, adherentni**Regulativni podatki****Citation** MDBK (NBL-1) (katalogška številka Cytion 600396)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9913**CellosaurusAccession** CVCL_0421**Biomolekularni podatki****Viruses** Linija je bila testirana in se je izkazalo, da ni okužena z virusom goveje diareje (BVD).**Virus susceptibility** Celice so občutljive na virus goveje diareje, vezikularni stomatitis (sev Indiana), virus infekcijskega govejega rinotraheitisa, goveji parvovirus, goveji adenovirus I in III ter virus parainfluence 3.**Virus resistance** Poliovirus 2**Reverse transcriptase** Negativni**Products** Keratin**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase

Celice MDBK (NBL-1) | 600396

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Seeding density 1×10^4 celic/cm²

Fluid renewal Vsakih 3 dni

Post-Thaw Recovery Hitro

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogska številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice MDBK (NBL-1) | 600396

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice MDBK (NBL-1) | 600396

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.