

MDBK (NBL-1) solut | 600396

Yleisiä tietoja

Description

MDBK-solut, jotka ovat lyhenne sanoista Madin-Darby Bovine Kidney cells (tunnetaan myös nimellä NBL-1), ovat poikkeuksellinen biologinen resurssi, joka on peräisin näennäisesti terveiden aikuisten Bos taurus -nautojen munuaisista, erityisesti miespuolisista yksilöistä. Nämä solut kasvavat kiinni ja niillä on epiteelin kaltainen morfologia.

Yksi MDBK-solujen merkittävistä sovelluksista on niiden kyky helpottaa in vitro -tutkimuksia, joissa tutkitaan Eimeria bovis -bakteerista peräisin olevien antigeenien ilmentymistä isäntäsolujen pintakalvolla. Lisäksi MDBK-soluja on käytetty tutkimuksissa, joissa on keskitytty paramyxovirusten, kuten simian virus 5:n ja ihmisen parainfluenssaviruksen tyyppi 2:n, V-proteiinien aiheuttamaan signaalinmuuntimen ja transkription aktivaattorin 1 ja 2 (STAT1 ja STAT2) ubikitinaatioon ja hajoamiseen.

MDBK-solujen keskimääräinen kaksinkertaistumisaika on 24-35 tuntia, ja ne lisääntyvät kohtalaisesti. MDBK-solulinja perustettiin 18. helmikuuta 1957, jolloin S.H. Madin ja N.B. Darby saivat sen onnistuneesti terveen aikuisen härän munuaisesta. Siitä lähtien näistä soluista on tullut biologisen tutkimuksen kulmakivi, joka on mahdollistanut lukuisia läpimurtoja eri tieteenaloilla.

MDBK-solujen karyotyypianalyysi paljastaa, että niiden modaalinen kromosomimäärä on 51, mikä viittaa hypodiploidiseen tilaan. Solupopulaatiossa hypodiploidinen tila ilmenee kantakromosomilukuna $2n = 60$, ja 2S-komponenttia esiintyy noin 5 prosentissa soluista. Lisäksi tyypillisesti esiintyy 11-14 merkkikromosomia, jotka koostuvat meta-, submeta- ja akro-telosentristen kromosomien yhdistelmästä. Huomattavaa on, että x-kromosomi vaikuttaa monosomiselta, eikä HSR-kromosomeja tai DM:iä (kaksoisminuutteja) havaita.

MDBK-soluilla on monia sovelluksia biologisen tutkimuksen alalla. Niiden hyöty ulottuu 3D-soluviljelyyn, jonka avulla tutkijat voivat luoda monimutkaisia kudoksen kaltaisia rakenteita edistyneempiä tutkimuksia varten. Lisäksi MDBK-solut ovat korvaamattomia korkean läpimenon seulonnassa, joka helpottaa yhdisteiden tai aineiden nopeaa ja tehokasta seulontaa eri tarkoituksiin. Lisäksi näillä soluilla on ratkaiseva rooli toksikologisissa tutkimuksissa, jotka ovat välttämättömiä arvioitaessa aineiden turvallisuutta ja mahdollisia haittavaikutuksia eläviin organismeihin.

Virusherkkyyden osalta MDBK-solut ovat vastaanottavia useille patogeeneille, kuten Vesicular stomatitis Orsay (Indiana) -virukselle, naudan tarttuvalle rinotrakeiittivirukselle, naudan rinotrakeiittivirukselle, naudan parvovirukselle, naudan adenoviruksille 2 ja 3, naudan virusripulivirukselle 1 ja parainfluenssa kolmosvirukselle. Tämä alttius monenlaisille viruksille tekee MDBK-soluista korvaamattomia viruspatogeneesin tutkimisessa ja viruslääkintästrategioiden arvioinnissa.

Organism Nauta

Tissue Munuaiset

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

Ominaisuudet

Breed/Subspecies Bos taurus

MDBK (NBL-1) solut | 600396

| | |
|--------------------------|---------------------------|
| Age | Aikuiset |
| Gender | Mies |
| Morphology | Epiteelin kaltainen |
| Growth properties | Yksikerroksinen, tarttuva |

Säätelytiedot

| | |
|-----------------------------|---|
| Citation | MDBK (NBL-1) (Cytionin luettelonumero 600396) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 9913 |
| CellosaurusAccession | CVCL_0421 |

Biomolekyyli tiedot

| | |
|------------------------------|--|
| Viruses | Linja testattiin ja osoittautui vapaaksi naudan ripuliviruksesta (BVD). |
| Virus susceptibility | Solut ovat herkkiä naudan ripulivirukselle, vesicular stomatitis (Indiana-kanta), naudan tarttuvalle rinotrakeiittivirukselle, naudan parvovirukselle, naudan adenovirus I:lle ja III:lle sekä parainfluenssavirukselle 3. |
| Virus resistance | Poliovirus 2 |
| Reverse transcriptase | Negatiivinen |
| Products | Keratiini |

Käsittely

| | |
|-----------------------|--|
| Culture Medium | EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a) |
| Supplements | Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla |

MDBK (NBL-1) solut | 600396

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Seeding density 1×10^4 solua/cm²

Fluid renewal 3 päivän välein

Post-Thaw Recovery Nopea

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

MDBK (NBL-1) solut | 600396

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

MDBK (NBL-1) solut | 600396

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.