

MDBK (NBL-1) ląstelės | 600396

Bendra informacija

Description

MDBK ląstelės, sutrumpintai vadinamos Madin-Darby galvijų inkstų ląstelėmis (taip pat žinomos kaip NBL-1), yra išskirtinis biologinis šaltinis, gautas iš akivaizdžiai sveikų suaugusių Bos taurus, ypač vyriškos lyties, inkstų. Šios ląstelės auga adherentiškai ir pasižymi į epitelį panašia morfologija.

Vienas iš puikių MDBK ląstelių pritaikymo būdų yra jų gebėjimas palengvinti in vitro tyrimus, susijusius su Eimeria bovis išvestų antigenų raiška ant šeimininko ląstelių paviršiaus membranos.

Be to, MDBK ląstelės buvo panaudotos atliekant tyrimus, susijusius su signalo transduktoriaus ir transkripcijos aktyvatoriaus 1 ir 2 (STAT1 ir STAT2) ubikvitinacija ir degradacija dėl paramiksovirusų, pavyzdžiui, penktojo šimpanzių viruso ir 2 tipo žmogaus paragripo viruso, V baltymų.

MDBK ląstelės, kurių vidutinė padvigubėjimo trukmė svyruoja nuo 24 iki 35 valandų, pasižymi vidutiniu proliferacijos greičiu. MDBK ląstelių linija buvo sukurta 1957 m. vasario 18 d., kai S. H. Madinas ir N. B. Darby sėkmingai ją išvedė iš sveiko suaugusio jaučio inksto. Nuo to laiko šios ląstelės tapo kertiniu biologinių tyrimų akmeniu, leidusiu pasiekti daugybę laimėjimų įvairiose mokslo srityse.

MDBK ląstelių kariotipo analizė rodo, kad modalinis chromosomų skaičius yra 51, o tai rodo hipodiploidinę būseną. Ląstelių populiacijoje hipodiploidinė būklė pasireiškia kaip kamieninių chromosomų skaičius $2n = 60$, o 2S komponentas pasitaiko maždaug 5 % ląstelių. Be to, paprastai yra 11-14 žyminių chromosomų, kurias sudaro metacentrinių, submetacentrinių ir akrotelocentrinių chromosomų derinys. Pažymėtina, kad x chromosoma yra monosominė, o HSR chromosomų ar DM (dvigubų minučių) nepastebima.

MDBK ląstelės gali būti pritaikomos biologinių tyrimų srityje. Jų naudingumas apima ir 3D ląstelių kultūrą, leidžiančią mokslininkams atkurti sudėtingas į audinius panašias struktūras pažangiems tyrimams. Be to, MDBK ląstelės yra neįkainojamos atliekant didelio našumo atrankinę patikrą, nes padeda greitai ir efektyviai atlikti junginių ar medžiagų atranką įvairiems tikslams. Be to, šios ląstelės atlieka svarbų vaidmenį toksikologiniuose tyrimuose, kurie būtini vertinant medžiagų saugumą ir galimą neigiamą poveikį gyviems organizmams. Kalbant apie jautrumą virusams, MDBK ląstelės pasižymi imlumu keliems patogenams, įskaitant Vesicular stomatitis Orsay (Indianos) virusą, infekcinio galvijų rinotracheito virusą, galvijų rinotracheito virusą, galvijų parvovirusą, galvijų adenovirusą 2 ir 3, galvijų virusinės diarėjos virusą 1 ir trečiąjį paragripo virusą. Dėl šio jautrumo įvairiems virusams MDBK ląstelės yra neįkainojamos tiriant virusų patogenezę ir vertinant antivirusines strategijas.

Organism Galvijų

Tissue Inkstai

Synonyms MDBK (NBL-1), NBL-1, Madin-Darby galvijų inkstai, Madin Darby galvijų inkstai

Charakteristikos

Breed/Subspecies Bos taurus

Age Suaugusiųjų

MDBK (NBL-1) ląstelės | 600396**Gender** Vyras**Morphology** Į epitelį panašus**Growth properties** Viensluoksnis, prigludęs**Reguliavimo duomenys****Citation** MDBK (NBL-1) (Cytion katalogo numeris 600396)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9913**CellosaurusAccession** CVCL_0421**Biomolekuliniai duomenys****Viruses** Buvo iširta ši linija ir nustatyta, kad joje nėra galvijų diarėjos viruso (BVD).**Virus susceptibility** Ląstelės jautrios galvijų viduriavimo virusui, vezikulinio stomatito (Indianos padermė), infekcinio galvijų rinotracheito virusui, galvijų parvovirusui, galvijų adenovirusui I ir III bei 3 paragripo virusui.**Virus resistance** Poliovirusas 2**Reverse transcriptase** Neigiamas**Products** Keratinas**Tvarkymas****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase

MDBK (NBL-1) ląstelės | 600396

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Seeding density 1×10^4 ląstelės/cm²

Fluid renewal Kas 3 dienas

Post-Thaw Recovery Greitai

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

MDBK (NBL-1) ląstelės | 600396

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

MDBK (NBL-1) ląstelės | 600396

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.