

MDBK (NBL-1) šūnas | 600396

Vispārīga informācija

Description

MDBK šūnas, saīsinājums no Madin-Darby Bovine Kidney cells (pazīstamas arī kā NBL-1), ir izņēmuma bioloģiskais resurss, kas iegūts no acīmredzami veselu pieaugušu Bos taurus, īpaši vīriešu dzimuma indivīdu, nierēm. Šīs šūnas aug adherenti un tām ir epitēlijam līdzīga morfoloģija.

Viens no ievērojamiem MDBK šūnu lietojumiem ir to spēja atvieglot in vitro pētījumus par Eimeria bovis radīto antigēnu ekspresiju uz saimnieka šūnu virsmas membrānas.

Turklāt MDBK šūnas ir izmantotas pētījumos, kas saistīti ar 1. un 2. signāla transducera un transkripcijas aktivatora (STAT1 un STAT2) ubikvitināciju un degradāciju, ko veic paramiksovīrusu, piemēram, piektā simiāna vīrusa un 2. tipa cilvēka paragripas vīrusa, V proteīni.

MDBK šūnām, kuru vidējais dubultošanās laiks svārstās no 24 līdz 35 stundām, ir mērena proliferācija. MDBK šūnu līnija tika izveidota 1957. gada 18. februārī, kad S. H. Madins un N. B. Darbijs to veiksmīgi ieguva no veselīga pieauguša vērša nierēm. Kopš tā laika šīs šūnas ir kļuvušas par stūrakmeni bioloģiskajos pētījumos, ļaujot veikt daudzus atklājumus dažādās zinātnes jomās.

MDBK šūnu kariotipa analīzē atklāts 51 hromosomu modālais skaits, kas norāda uz hipodiploīdu stāvokli. Šūnu populācijā hipodiploīdais stāvoklis izpaužas kā cilmes hromosomu skaits $2n = 60$, un 2S komponents sastopams aptuveni 5 % šūnu. Turklāt parasti ir 11-14 marķieru hromosomu, kas sastāv no metacentriskām, submetacentriskām un akrotelocentriskām hromosomām. Īpaši jāatzīmē, ka x hromosoma ir monosomiska, bet HSR hromosomas vai DM (dubultās minūtes) nav novērotas.

MDBK šūnām ir virkne pielietojumu bioloģisko pētījumu jomā. To lietderība attiecas arī uz 3D šūnu kultūrām, ļaujot zinātniekiem atjaunot sarežģītas audiem līdzīgas struktūras progresīviem pētījumiem. Turklāt MDBK šūnas ir nenovērtējamas augstas veikspējas skrīningā, veicinot ātru un efektīvu savienojumu vai aģentu skrīningu dažādiem mērķiem. Turklāt šīm šūnām ir būtiska nozīme toksikoloģiskajos pētījumos, kas ir būtiski, lai novērtētu vielu drošību un iespējamo kaitīgo ietekmi uz dzīvjiem organismiem.

Attiecībā uz uzņēmību pret vīrusiem MDBK šūnas ir uzņēmīgas pret vairākiem patogēniem, tostarp pret Vesikulārā stomatīta Orsē (Indiana) vīrusu, liellopu infekciozā rinotraheīta vīrusu, liellopu rinotraheīta vīrusu, liellopu parvovīrusu, liellopu adenovīrusu 2 un 3, liellopu vīrusu diarrejas vīrusu 1 un paragripas vīrusu. Šī uzņēmība pret dažādiem vīrusiem padara MDBK šūnas nenovērtējamas vīrusu patoģenēzes izpētē un pretvīrusu stratēģiju novērtēšanā.

Organism Liellopu

Tissue Nieres

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

Raksturojums

Breed/Subspecies Bos taurus

Age Pieaugušo

MDBK (NBL-1) šūnas | 600396

Gender	Vīrieši
Morphology	Epitēlijveidīgs
Growth properties	Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

Citation	MDBK (NBL-1) (Cytion kataloga numurs 600396)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9913
CellosaurusAccession	CVCL_0421

Biomolekulārie dati

Viruses	Tika veikts tests un pierādīts, ka šī līnija nav inficēta ar govju caurejas vīrusu (BVD).
Virus susceptibility	Šūnas ir uzņēmīgas pret liellopu caurejas vīrusu, vezikulāro stomatītu (Indiānas celms), liellopu infekciozā rinotraheīta vīrusu, liellopu parvovīrusu, liellopu adenovīrusu I un III un 3. paragripas vīrusu.
Virus resistance	Poliovīruss 2
Reverse transcriptase	Negatīvs
Products	Keratīns

Darbs ar

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase

MDBK (NBL-1) šūnas | 600396

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Seeding density 1×10^4 šūnas/cm²

Fluid renewal Ik pēc 3 dienām

Post-Thaw Recovery Fast

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

MDBK (NBL-1) šūnas | 600396

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

MDBK (NBL-1) šūnas | 600396

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.