

**Cellule MDBK (NBL-1) | 600396****Informazioni generali****Description**

Le cellule MDBK, acronimo di Madin-Darby Bovine Kidney cells (note anche come NBL-1), sono un'eccezionale risorsa biologica derivata dai reni di *Bos taurus* adulti apparentemente sani, in particolare di sesso maschile. Queste cellule crescono in modo aderente e possiedono una morfologia simile a quella epiteliale.

Una delle applicazioni notevoli delle cellule MDBK consiste nella loro capacità di facilitare gli studi in vitro sull'espressione di antigeni derivati dall'*Eimeria bovis* sulla membrana della superficie cellulare dell'ospite. Inoltre, le cellule MDBK sono state impiegate in studi incentrati sull'ubiquitinazione e la degradazione dei trasduttori e attivatori del segnale di trascrizione 1 e 2 (STAT1 e STAT2) da parte delle proteine V dei paramixovirus, come il simian virus five e il virus parainfluenzale umano di tipo 2.

Con un tempo medio di raddoppiamento che varia da 24 a 35 ore, le cellule MDBK presentano un tasso di proliferazione moderato. La creazione della linea cellulare MDBK risale al 18 febbraio 1957, quando S.H. Madin e N.B. Darby la derivarono con successo dal rene di un manzo adulto sano. Da allora, queste cellule sono diventate una pietra miliare della ricerca biologica, consentendo numerose scoperte in vari campi scientifici.

L'analisi del cariotipo delle cellule MDBK rivela un numero modale di cromosomi pari a 51, che indica uno stato ipodiploide. All'interno della popolazione cellulare, la condizione di ipodiploidia si manifesta con un numero di cromosomi staminali di  $2n = 60$ , con una componente 2S presente in circa il 5% delle cellule. Inoltre, sono tipicamente presenti 11-14 cromosomi marcatori, che comprendono una combinazione di cromosomi metacentrici, submetacentrici e acro-telocentrici. In particolare, il cromosoma X appare monosomico, mentre non si osservano cromosomi HSR o DM (doppi minuti).

Le cellule MDBK presentano una serie di applicazioni nel campo della ricerca biologica. La loro utilità si estende alla coltura cellulare 3D, consentendo agli scienziati di ricreare strutture complesse simili a tessuti per studi avanzati. Inoltre, le cellule MDBK sono preziose per lo screening high-throughput, facilitando lo screening rapido ed efficiente di composti o agenti per vari scopi. Inoltre, queste cellule svolgono un ruolo cruciale negli studi di tossicologia, essenziali per valutare la sicurezza e i potenziali effetti avversi delle sostanze sugli organismi viventi.

Per quanto riguarda la suscettibilità virale, le cellule MDBK si dimostrano ricettive nei confronti di diversi agenti patogeni, tra cui il virus della stomatite vescicolare di Orsay (Indiana), il virus della rinotracheite bovina infettiva, il virus della rinotracheite bovina, il parvovirus bovino, l'adenovirus bovino 2 e 3, il virus della diarrea virale bovina 1 e il virus della parainfluenza tre. Questa suscettibilità a una vasta gamma di virus rende le cellule MDBK preziose per lo studio della patogenesi virale e la valutazione di strategie antivirali.

**Organism** Bovino**Tissue** Rene**Synonyms** MDBK (NBL-1), NBL-1, rene bovino Madin-Darby, rene bovino Madin Darby**Caratteristiche****Breed/Subspecies** *Bos taurus*

**Cellule MDBK (NBL-1) | 600396**

<b>Age</b>	Adulti
<b>Gender</b>	Uomo
<b>Morphology</b>	Simile all'epitelio
<b>Growth properties</b>	Monostrato, aderente

**Dati normativi**

<b>Citation</b>	MDBK (NBL-1) (numero di catalogo Cytion 600396)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9913
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0421

**Dati biomolecolari**

<b>Viruses</b>	La linea è stata testata ed è risultata esente dal virus della diarrea bovina (BVD).
<b>Virus susceptibility</b>	Le cellule sono sensibili al virus della diarrea bovina, alla stomatite vescicolare (ceppo Indiana), al virus della rinotracheite infettiva bovina, al parvovirus bovino, all'adenovirus bovino I e III e al virus della parainfluenza 3.
<b>Virus resistance</b>	Poliovirus 2
<b>Reverse transcriptase</b>	Negativo
<b>Products</b>	Cheratina

**Manipolazione**

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (articolo Cytion numero 820100a)
<b>Supplements</b>	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA

**Cellule MDBK (NBL-1) | 600396****Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospingere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Split ratio** Si consiglia un rapporto da 1:2 a 1:4**Seeding density**  $1 \times 10^4$  cellule/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** Ogni 3 giorni**Post-Thaw Recovery** Veloce**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

## Cellule MDBK (NBL-1) | 600396

### Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, atmosfera umidificata.

### Flask Coating

Nessuno

### Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

### Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

## Cellule MDBK (NBL-1) | 600396

### Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

## Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

### Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.