

Células MDCK-SIAT1 | 602281

Información general

Description

La línea celular MDCK-SIAT1 es una versión modificada de las células Madin-Darby Canine Kidney (MDCK), diseñada para expresar niveles más altos de 2,6-sialiltransferasa humana (SIAT1). Esta enzima es responsable de la adición de ácido siálico en un enlace alfa-2,6 a la galactosa en glicoproteínas y glicolípidos. La modificación se realizó para aumentar la expresión de ácidos siálicos enlazados alfa-2,6, que son los receptores primarios de los virus de la gripe humana. Esta mejora es fundamental, ya que hace que las células MDCK-SIAT1 se parezcan más al epitelio de las vías respiratorias humanas, que naturalmente tiene una alta concentración de estos receptores. Como resultado, estas células ofrecen un modelo fisiológicamente más relevante para estudiar los virus de la gripe humana y sus interacciones con posibles compuestos antivirales.

Una de las aplicaciones significativas de las células MDCK-SIAT1 es la evaluación de la sensibilidad del virus de la gripe a los inhibidores de la neuraminidasa (NAI), como el oseltamivir. Debido a la mayor presencia de ácidos siálicos enlazados alfa-2,6, las células MDCK-SIAT1 demuestran una mayor sensibilidad a los NAI en comparación con las células MDCK no modificadas. Esto las convierte en una herramienta excelente para detectar la resistencia a estos inhibidores, especialmente en aislados clínicos de virus de la gripe humana con bajo número de pasajes. La línea celular MDCK-SIAT1 permite realizar estudios in vitro más precisos de la eficacia de los fármacos y de las interacciones de los receptores virales, proporcionando valiosos conocimientos sobre el desarrollo de terapias antivirales y mecanismos de resistencia.

Organism Canino

Tissue Riñón

Características

Breed/Subspecies Cocker Spaniel

Age Adultos

Gender Mujer

Morphology Epitelial

Growth properties Adherente

Datos reglamentarios

Citation MDCK-SIAT1 (número de catálogo de Cytion 602281)

Biosafety level 2

Células MDCK-SIAT1 | 602281**NCBI_TaxID** 9615**CellosaurusAccession** CVCL_Z936**GMO Status** GMO-S1: Esta línea celular de riñón epitelial canino (MDCK-SIAT1) contiene un constructo pcDNA3.1GS que codifica la 2,6-sialiltransferasa humana (SIAT1), permitiendo la expresión de patrones de sialilación similares a los humanos. El inserto está presente de forma estable en células MDCK. Esta clasificación sólo se aplica en Alemania y puede diferir en otros países.**Datos biomoleculares****Protein expression** Transfectadas con ST6 beta-galactósido alfa-2,6-sialiltransferasa 1 (ST6GAL1, SIAT1)**Manejo de****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO₃, w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)**Supplements** Suplementar el medio con 10% FBS y 1mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** de 21 a 31 horas**Subculturing** Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.**Split ratio** Se recomienda una proporción de 1:10 a 1:20.**Seeding density** De 2 a 4 x 10⁴ células/cm²**Fluid renewal** de 2 a 3 veces por semana

Células MDCK-SIAT1 | 602281

Freeze medium

Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmósfera humidificada.

Flask Coating

Ninguno

Freezing Procedure

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Células MDCK-SIAT1 | 602281

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.