

Cellules MDCK-SIAT1 | 602281**Informations générales****Description**

La lignée cellulaire MDCK-SIAT1 est une version modifiée des cellules MDCK (Madin-Darby Canine Kidney), conçue pour exprimer des niveaux plus élevés de 2,6-sialyltransférase humaine (SIAT1). Cette enzyme est responsable de l'ajout d'acide sialique dans une liaison alpha-2,6 au galactose sur les glycoprotéines et les glycolipides. La modification a été effectuée pour augmenter l'expression des acides sialiques liés à l'alpha-2,6, qui sont les principaux récepteurs des virus de la grippe humaine. Cette amélioration est essentielle car elle rend les cellules MDCK-SIAT1 plus semblables à l'épithélium des voies respiratoires humaines, qui présente naturellement une forte concentration de ces récepteurs. Par conséquent, ces cellules offrent un modèle physiologiquement plus pertinent pour l'étude des virus de la grippe humaine et de leurs interactions avec des composés antiviraux potentiels.

L'une des principales applications des cellules MDCK-SIAT1 est l'évaluation de la sensibilité du virus de la grippe aux inhibiteurs de la neuraminidase (INA), tels que l'oseltamivir. En raison de la présence accrue d'acides sialiques liés à l'alpha-2,6, les cellules MDCK-SIAT1 présentent une sensibilité accrue aux INA par rapport aux cellules MDCK non modifiées. Cela en fait un excellent outil pour détecter la résistance à ces inhibiteurs, en particulier dans les isolats cliniques de virus grippaux humains à faible numéro de passage. La lignée cellulaire MDCK-SIAT1 permet des études in vitro plus précises de l'efficacité des médicaments et des interactions avec les récepteurs viraux, ce qui fournit des informations précieuses sur le développement des thérapies antivirales et des mécanismes de résistance.

Organism Canine**Tissue** Rein**Caractéristiques****Breed/Subspecies** Épagneul cocker**Age** Adulte**Gender** Femme**Morphology** Épithéliale**Growth properties** Adhérent**Données réglementaires****Citation** MDCK-SIAT1 (numéro de catalogue Cytion 602281)**Biosafety level** 2

Cellules MDCK-SIAT1 | 602281**NCBI_TaxID** 9615**CellosaurusAccession** CVCL_Z936**GMO Status** OGM-S1 : Cette lignée de cellules rénales épithéliales canines (MDCK-SIAT1) contient une construction pcDNA3.1GS codant pour la 2,6-sialyltransférase humaine (SIAT1), permettant l'expression de motifs de sialylation de type humain. L'insert est présent de façon stable dans les cellules MDCK. Cette classification ne s'applique qu'à l'Allemagne et peut différer dans d'autres pays.**Données biomoléculaires****Protein expression** Transfecté avec ST6 beta-galactoside alpha-2,6-sialyltransférase 1 (ST6GAL1, SIAT1)**Manipulation****Culture Medium** DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO₃, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS et 1mg/ml de G418**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 21 à 31 heures**Subculturing** Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.**Split ratio** Un rapport de 1:10 à 1:20 est recommandé.**Seeding density** 2 à 4 x 10⁴ cellules/cm²**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine

Cellules MDCK-SIAT1 | 602281

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Cellules MDCK-SIAT1 | 602281

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.