

**Cellule MDCK-SIAT1 | 602281****Informazioni generali****Description**

La linea cellulare MDCK-SIAT1 è una versione modificata delle cellule Madin-Darby Canine Kidney (MDCK), ingegnerizzata per esprimere livelli più elevati di 2,6-sialiltransferasi umana (SIAT1). Questo enzima è responsabile dell'aggiunta di acido sialico in un legame alfa-2,6 al galattosio su glicoproteine e glicolipidi. La modifica è stata eseguita per aumentare l'espressione degli acidi sialici legati all'alfa-2,6, che sono i recettori primari per i virus dell'influenza umana. Questo miglioramento è fondamentale perché rende le cellule MDCK-SIAT1 più simili all'epitelio delle vie aeree umane, che presenta naturalmente un'elevata concentrazione di questi recettori. Di conseguenza, queste cellule offrono un modello fisiologicamente più rilevante per lo studio dei virus influenzali umani e delle loro interazioni con potenziali composti antivirali.

Una delle applicazioni significative delle cellule MDCK-SIAT1 è la valutazione della sensibilità del virus influenzale agli inibitori della neuraminidasi (NAI), come l'oseltamivir. Grazie alla maggiore presenza di acidi sialici legati all'alfa-2,6, le cellule MDCK-SIAT1 dimostrano una maggiore sensibilità ai NAI rispetto alle cellule MDCK non modificate. Ciò le rende uno strumento eccellente per rilevare la resistenza a questi inibitori, soprattutto negli isolati clinici a basso numero di passaggi dei virus influenzali umani. La linea cellulare MDCK-SIAT1 consente studi in vitro più accurati sull'efficacia dei farmaci e sulle interazioni con i recettori virali, fornendo preziose indicazioni sullo sviluppo di terapie antivirali e sui meccanismi di resistenza.

**Organism** Canino**Tissue** Rene**Caratteristiche****Breed/Subspecies** Cocker Spaniel**Age** Adulti**Gender** Donna**Morphology** Epiteliale**Growth properties** Aderente**Dati normativi****Citation** MDCK-SIAT1 (catalogo Cytion numero 602281)**Biosafety level** 2

## Cellule MDCK-SIAT1 | 602281

**NCBI\_TaxID** 9615

**CellosaurusAccession** CVCL\_Z936

**GMO Status** GMO-S1: Questa linea cellulare di rene epiteliale canino (MDCK-SIAT1) contiene un costrutto pcDNA3.1GS che codifica la 2,6-sialiltransferasi umana (SIAT1), consentendo l'espressione di modelli di sialilazione simili a quelli umani. L'inserto è stabilmente presente in cellule MDCK. Questa classificazione si applica solo in Germania e può differire altrove.

### Dati biomolecolari

**Protein expression** Trasfettati con ST6 beta-galattoside alfa-2,6-sialiltransferasi 1 (ST6GAL1, SIAT1)

### Manipolazione

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)

**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e 1mg/ml di G418

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** da 21 a 31 ore

**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 di 1:10-1:20.

**Seeding density** Da 2 a 4 x 10<sup>4</sup> cellule/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana

**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 MDCK-SIAT1 | 602281

### 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  $-150^{\circ}\text{C}$  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  $37^{\circ}\text{C}$  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  $300 \times g$  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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78^{\circ}\text{C}$  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  $-78^{\circ}\text{C}$  durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

## Cellule MDCK-SIAT1 | 602281

### 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.