

Células MDCK-SIAT1 | 602281

Informações gerais

Description

A linha celular MDCK-SIAT1 é uma versão modificada das células Madin-Darby Canine Kidney (MDCK), projectada para expressar níveis mais elevados de 2,6-sialiltransferase humana (SIAT1). Esta enzima é responsável pela adição de ácido siálico numa ligação alfa-2,6 à galactose em glicoproteínas e glicolípidos. A modificação foi efectuada para aumentar a expressão de ácidos siálicos ligados a alfa-2,6, que são os principais receptores dos vírus da gripe humana. Este aumento é fundamental, uma vez que torna as células MDCK-SIAT1 mais semelhantes ao epitélio das vias respiratórias humanas, que possui naturalmente uma elevada concentração destes receptores. Como resultado, estas células oferecem um modelo fisiologicamente mais relevante para o estudo dos vírus da gripe humana e das suas interações com potenciais compostos antivirais.

Uma das aplicações significativas das células MDCK-SIAT1 é a avaliação da sensibilidade do vírus da gripe aos inibidores da neuraminidase (NAI), como o oseltamivir. Devido à maior presença de ácidos siálicos ligados a alfa-2,6, as células MDCK-SIAT1 demonstram uma maior sensibilidade aos NAIs em comparação com as células MDCK não modificadas. Isto torna-as uma excelente ferramenta para detetar a resistência a estes inibidores, especialmente em isolados clínicos de vírus da gripe humana com baixo número de passagens. A linha celular MDCK-SIAT1 permite estudos in vitro mais precisos da eficácia dos medicamentos e das interações com os receptores virais, fornecendo informações valiosas sobre o desenvolvimento de terapias antivirais e mecanismos de resistência.

Organism Caninos

Tissue Rim

Caraterísticas

Breed/Subspecies Cocker Spaniel

Age Adulto

Gender Feminino

Morphology Epitelial

Growth properties Aderente

Dados regulamentares

Citation MDCK-SIAT1 (número de catálogo Cytion 602281)

Biosafety level 2

Células MDCK-SIAT1 | 602281**NCBI_TaxID** 9615**CellosaurusAccession** CVCL_Z936**GMO Status** GMO-S1: Esta linha celular epitelial renal canina (MDCK-SIAT1) contém uma construção pcDNA3.1GS que codifica a 2,6-sialiltransferase humana (SIAT1), permitindo a expressão de padrões de sialilação semelhantes aos humanos. A inserção está presente de forma estável em células MDCK. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.**Dados biomoleculares****Protein expression** Transfectado com ST6 beta-galactosídeo alfa-2,6-sialiltransferase 1 (ST6GAL1, SIAT1)**Manuseamento****Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)**Supplements** Suplementar o meio com 10% de FBS e 1mg/ml de G418**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 21 a 31 horas**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density** 2 a 4 x 10⁴ células/cm²**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células MDCK-SIAT1 | 602281

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células MDCK-SIAT1 | 602281

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.