

## Celule MDCK-SIAT1 | 602281

## Informații generale

## Description

Linia celulară MDCK-SIAT1 este o versiune modificată a celulelor Madin-Darby Canine Kidney (MDCK), modificată pentru a exprima niveluri mai ridicate de 2,6-sialiltransferază umană (SIAT1). Această enzimă este responsabilă de adăugarea acidului sialic într-o legătură alfa-2,6 la galactoză pe glicoproteine și glicolipide. Modificarea a fost efectuată pentru a crește expresia acizilor sialici legați alfa-2,6, care sunt principalii receptori pentru virusurile gripale umane. Această îmbunătățire este esențială deoarece face celulele MDCK-SIAT1 mai asemănătoare cu epiteliul uman al căilor respiratorii, care are în mod natural o concentrație ridicată a acestor receptori. Ca urmare, aceste celule oferă un model mai relevant din punct de vedere fiziologic pentru studierea virusurilor gripale umane și a interacțiunilor acestora cu potențiali compuși antivirali.

Una dintre aplicațiile semnificative ale celulelor MDCK-SIAT1 este evaluarea sensibilității virusului gripal la inhibitorii de neuraminidază (NAI), cum ar fi oseltamivirul. Datorită prezenței crescute a acizilor sialici legați cu alfa-2,6, celulele MDCK-SIAT1 demonstrează o sensibilitate îmbunătățită la NAI comparativ cu celulele MDCK nemodificate. Acest lucru le transformă într-un instrument excelent pentru detectarea rezistenței la acești inhibitori, în special în cazul izolatelor clinice cu număr mic de trecere ale virusurilor gripale umane. Linia celulară MDCK-SIAT1 permite studii in vitro mai precise ale eficacității medicamentelor și ale interacțiunilor receptorilor virali, oferind informații valoroase privind dezvoltarea terapiei antivirale și a mecanismelor de rezistență.

**Organism** Canin

**Tissue** Rinichi

## Caracteristici

**Breed/Subspecies** Cocker Spaniel

**Age** Adult

**Gender** Femei

**Morphology** Epitelial

**Growth properties** Aderent

## Date de reglementare

**Citation** MDCK-SIAT1 (număr de catalog Cytion 602281)

**Biosafety level** 2

**Celule MDCK-SIAT1 | 602281****NCBI\_TaxID** 9615**CellosaurusAccession** CVCL\_Z936**GMO Status** OMG-S1: Această linie celulară de rinichi epitelial canin (MDCK-SIAT1) conține o construcție pcDNA3.1GS care codifică 2,6-sialiltransferaza umană (SIAT1), permițând exprimarea modelelor de sializare de tip uman. Inserția este prezentă în mod stabil în celulele MDCK. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.**Date biomoleculare****Protein expression** Transfectat cu ST6 beta-galactosidă alfa-2,6-sialiltransferază 1 (ST6GAL1, SIAT1)**Manipulare****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS și 1mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 21 până la 31 de ore**Subculturing** Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.**Seeding density** 2 până la  $4 \times 10^4$  cel<sup>ule</sup>/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** de 2 până la 3 ori pe săptămână**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

## Celule MDCK-SIAT1 | 602281

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , atmosferă umidificată.

### Flask Coating

Niciuna

### Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

### Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

## Celule MDCK-SIAT1 | 602281

### Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

## Controlul calității / Profil genetic / HLA

### Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.