

Células MDCK-SIAT1 | 602281

Información general

Description

La línea celular MDCK-SIAT1 es una versión modificada de las células renales caninas Madin-Darby (MDCK), diseñadas para expresar niveles más altos de 2,6-sialiltransferasa humana (SIAT1). Esta enzima es responsable de la adición de ácido siálico mediante un enlace alfa-2,6 a la galactosa en las glicoproteínas y los glicolípidos. La modificación se realizó para aumentar la expresión de los ácidos siálicos con enlace alfa-2,6, que son los receptores principales de los virus de la influenza humana. Esta mejora es fundamental, ya que hace que las células MDCK-SIAT1 sean más similares al epitelio de las vías respiratorias humanas, que naturalmente presenta una alta concentración de estos receptores. Como resultado, estas células ofrecen un modelo más relevante desde el punto de vista fisiológico para estudiar los virus de la influenza humana y sus interacciones con posibles compuestos antivirales.

Una de las aplicaciones más importantes 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 con enlaces alfa-2,6, las células MDCK-SIAT1 muestran una mayor sensibilidad a los NAI en comparación con las células MDCK no modificadas. Esto las convierte en una excelente herramienta 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 sobre la eficacia de los fármacos y las interacciones con los receptores virales, lo que brinda información valiosa para el desarrollo de terapias antivirales y el estudio de los mecanismos de resistencia.

Organism Canino

Tissue Riñón

Características

Breed/Subspecies Cocker Spaniel

Age Adulto

Gender Mujer

Morphology Epithelial

Growth properties Adherente

Datos normativos

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 renal epitelial canina (MDCK-SIAT1) contiene un constructo pcDNA3.1GS que codifica la 2,6-sialiltransferasa humana (SIAT1), lo que permite la expresión de patrones de sialilación similares a los humanos. El inserto está presente de manera estable en las células MDCK. Esta clasificación se aplica únicamente en Alemania y puede variar en otros países.

Datos biomoleculares

Protein expression Transfectadas con la beta-galactosida alfa-2,6-sialiltransferasa 1 de ST6 (ST6GAL1, SIAT1)

Manejo

Culture Medium DMEM, p/v: 4,5 g/L de glucosa, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO₃, p/v: 1,0 mM de piruvato de sodio (número de artículo de Cytion 820300a)

Supplements Añade al medio un 10 % de FBS y 1 mg/ml de G418

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time De 21 a 31 horas

Subculturing Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfíralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.

Seeding density De 2 a 4 × 10⁴ células/cm²

Fluid renewal De 2 a 3 veces por semana

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

Células MDCK-SIAT1 | 602281

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera 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. Centrifugue la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiera todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % de CO_2 , atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, aproximadamente. El almacenamiento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Células MDCK-SIAT1 | 602281

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.