

Cellules MDCK-SIAT1 | 602281**Renseignements généraux****Description**

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

L'une des applications majeures des cellules MDCK-SIAT1 réside dans 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 par une liaison 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 de la grippe humaine à faible nombre de passages. La lignée cellulaire MDCK-SIAT1 permet de mener des études in vitro plus précises sur l'efficacité des médicaments et les interactions avec les récepteurs viraux, fournissant ainsi des renseignements précieux pour le développement de traitements antiviraux et la compréhension des mécanismes de résistance.

Organism Canin**Tissue** Rein**Caractéristiques****Breed/Subspecies** Cocker spaniel**Age** Adulte**Gender** Femme**Morphology** Épithélial**Growth properties** Adepte**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 GMO-S1 : Cette lignée cellulaire épithéliale rénale canine (MDCK-SIAT1) contient un construct pcDNA3.1GS codant pour la 2,6-sialyltransférase humaine (SIAT1), ce qui permet l'expression de profils de sialylation de type humain. L'insert est présent de façon stable dans les cellules MDCK. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut différer ailleurs.

Données biomoléculaires

Protein expression Transfecté avec la bêta-galactoside alpha-2,6-sialyltransférase 1 ST6 (ST6GAL1, SIAT1)

Manipulation

Culture Medium DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de NaHCO₃, p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)

Supplements Ajouter au milieu 10 % de FBS et 1 mg/ml de G418

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time de 21 à 31 heures

Subculturing Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Seeding density de 2 à 4 × 10⁴ cellules/cm²

Fluid renewal 2 à 3 fois par semaine

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules MDCK-SIAT1 | 602281

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % de CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. L'entreposage à $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Cellules MDCK-SIAT1 | 602281

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

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

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.