

Células MDCK-SIAT1 | 602281

Informações gerais

Description

A linhagem celular MDCK-SIAT1 é uma versão modificada das células renais caninas Madin-Darby (MDCK), geneticamente modificadas para expressar níveis mais elevados da 2,6-sialiltransferase humana (SIAT1). Essa enzima é responsável pela adição de ácido siálico, por meio de uma ligação alfa-2,6, à galactose em glicoproteínas e glicolípídios. A modificação foi realizada para aumentar a expressão de ácidos siálicos ligados por alfa-2,6, que são os principais receptores dos vírus da gripe humana. Esse aprimoramento é fundamental, pois torna as células MDCK-SIAT1 mais semelhantes ao epitélio das vias aéreas humanas, que naturalmente apresenta uma alta concentração desses receptores. Como resultado, essas células oferecem um modelo fisiologicamente mais relevante para o estudo dos vírus da gripe humana e 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 (NAIs), como o oseltamivir. Devido à maior presença de ácidos siálicos ligados por alfa-2,6, as células MDCK-SIAT1 demonstram maior sensibilidade aos NAIs em comparação com as células MDCK não modificadas. Isso as torna uma excelente ferramenta para detectar resistência a esses inibidores, especialmente em isolados clínicos de vírus da gripe humana com baixo número de passagens. A linhagem celular MDCK-SIAT1 permite estudos in vitro mais precisos sobre a eficácia dos medicamentos e as interações com receptores virais, fornecendo informações valiosas para o desenvolvimento de terapias antivirais e o entendimento dos mecanismos de resistência.

Organism Canino

Tissue Rim

Características

Breed/Subspecies Cocker Spaniel

Age Adulto

Gender Mulher

Morphology Epithelial

Growth properties Aderente

Dados regulatórios

Citation MDCK-SIAT1 (número de catálogo da Cytion 602281)

Biosafety level 2

Células MDCK-SIAT1 | 602281

NCBI_TaxID 9615

CellosaurusAccession CVCL_Z936

GMO Status GMO-S1: Esta linhagem 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 nas células MDCK. Esta classificação se aplica apenas na Alemanha e pode diferir em outros países.

Dados biomoleculares

Protein expression Transfectadas com a beta-galactosídeo alfa-2,6-sialiltransferase 1 ST6 (ST6GAL1, SIAT1)

Manuseio

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

Supplements Adicione ao meio 10% de FBS e 1 mg/ml de G418

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 21 a 31 horas

Subculturing Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as 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 meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células MDCK-SIAT1 | 602281

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células MDCK-SIAT1 | 602281

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.