MDCK-SIAT1

602281

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

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.

Tecido	Rim

CLASSIFICAÇÃO

Organismo	Cão
Sexo	Feminino
Propriedades de crescimento	Aderente
Estatuto em matéria de OGM	GMO-S1

Detalhes sobre o estatuto dos OGM

GMO-S1: This canine epithelial kidney cell line (MDCK-SIAT1) contains a pcDNA3.1GS construct encoding human 2,6-sialyltransferase (SIAT1), enabling expression of human-like sialylation patterns. The insert is stably present in MDCK cells. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Nível de biossegurança	2

CARACTERÍSTICAS

Morfologia	Epitelial
Tempo de duplicação	21 a 31 horas

IDENTIFICADORES

Referência

MDCK-SIAT1 (número de catálogo Cytion 602281)

Número de identificação fiscal do NCBI	9615
Cellosaurus	CVCL_Z936

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

Expressão proteica

Transfectado com ST6 beta-galactosídeo alfa-2,6-sialiltransferase 1 (ST6GAL1, SIAT1)

MANUSEAMENTO E CULTURA

Meio de cultura

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)

Atmosfera de incubação	37°C, 5%CO2, atmosfera humidificada.

Suplementos

Suplementar o meio com 10% de FBS e 1mg/ml de G418

Reagente de dissociação	Accutase

Subcultura

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.

Densidade de sementeira	2 a 4 x 10^4 células/cm^2
Renovação de fluidos	2 a 3 vezes por semana

Descongelamento e cultura

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

CONTROLO DE QUALIDADE E CRIOPRESERVAÇÃO

Esterilidade

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.

Meio de congelação	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 optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Condições de armazenamento

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.

Condições de envio

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.

DOADOR

Raça / subespécie	Cocker Spaniel
Idade do dador	Adulto

ASPECTOS LEGAIS E DE SEGURANÇA

Precauções de segurança

Quando se planeia armazenar um criovial em nitrogénio líquido para descongelação futura, é obrigatório aderir a medidas de segurança rigorosas. Luvas e vestuário de proteção adequados são essenciais, e a utilização de uma máscara facial ou óculos de segurança é necessária durante a transferência de amostras congeladas para ou do tanque de nitrogénio líquido. Isto destina-se a mitigar o risco de ferimentos provocados por potenciais explosões de crioviais após a remoção, que podem resultar na projeção de fragmentos afiados.

Aviso legal

As nossas células são fornecidas exclusivamente para fins de investigação laboratorial in vitro e não se destinam a utilização clínica ou de diagnóstico, nem devem ser administradas a seres humanos ou utilizadas para fins veterinários. Os utilizadores devem aderir a todas as diretrizes e regulamentos aplicáveis para o manuseamento e utilização destas células num ambiente de investigação.

Garantia

Na Cytion, nós garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células serão viáveis no início da cultura por 60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no Certificado de Análise e/ou Folha de Produto
Para mais informações, consulte a nossa <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Declaração de Garantia

É necessário um Acordo de Transferência de Material	Yes