

Buňky MDCK-SIAT1 | 602281**Obecné informace****Description**

Buněčná linie MDCK-SIAT1 je modifikovaná verze buněk Madin-Darbyho psích ledvin (MDCK), která je upravena tak, aby exprimovala vyšší množství lidské 2,6-sialyltransferázy (SIAT1). Tento enzym je zodpovědný za přidávání kyseliny sialové ve vazbě alfa-2,6 na galaktózu na glykoproteinech a glykolipidech. Modifikace byla provedena za účelem zvýšení exprese sialových kyselin navázaných na alfa-2,6, které jsou primárními receptory pro lidské chřipkové viry. Toto zvýšení je zásadní, protože díky němu se buňky MDCK-SIAT1 více podobají epitelu lidských dýchacích cest, který má přirozeně vysokou koncentraci těchto receptorů. V důsledku toho tyto buňky nabízejí fyziologicky relevantnější model pro studium lidských chřipkových virů a jejich interakcí s potenciálními antivirovými sloučeninami.

Jedním z významných využití buněk MDCK-SIAT1 je hodnocení citlivosti chřipkového viru na inhibitory neuraminidázy (NAI), jako je oseltamivir. Díky zvýšené přítomnosti alfa-2,6-sialových kyselin vykazují buňky MDCK-SIAT1 lepší citlivost na NAI ve srovnání s nemodifikovanými buňkami MDCK. To z nich činí vynikající nástroj pro zjišťování rezistence k těmto inhibitorům, zejména u klinických izolátů lidských chřipkových virů s nízkým počtem průchodů. Buněčná linie MDCK-SIAT1 umožňuje přesnější in vitro studie účinnosti léčiv a interakcí s virovými receptory, což poskytuje cenné poznatky o vývoji antivirové terapie a mechanismech rezistence.

Organism Psi**Tissue** Ledviny**Charakteristika****Breed/Subspecies** Kokršpaněl**Age** Dospělí**Gender** Ženy**Morphology** Epitelové**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje****Citation** MDCK-SIAT1 (katalogové číslo Cytion 602281)**Biosafety level** 2

Buňky MDCK-SIAT1 | 602281**NCBI_TaxID** 9615**CellosaurusAccession** CVCL_Z936**GMO Status** GMO-S1: Tato linie psích epiteliálních ledvinových buněk (MDCK-SIAT1) obsahuje konstrukt pcDNA3.1GS kódující lidskou 2,6-sialyltransferázu (SIAT1), což umožňuje expresi sialylačních vzorů podobných lidským. Vložka je stabilně přítomna v buňkách MDCK. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.**Biomolekulární data****Protein expression** Transfekce ST6 beta-galaktosid alfa-2,6-sialyltransferázou 1 (ST6GAL1, SIAT1)**Zpracování****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS a 1mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 21 až 31 hodin**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčičku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:10 až 1:20.**Seeding density** 2 až 4 x 10⁴ buněk/cm²**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně

Buňky MDCK-SIAT1 | 602281**Freeze medium**

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky MDCK-SIAT1 | 602281

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.