

MDCK-SIAT1-celler | 602281

Generel information

Description

MDCK-SIAT1-cellelinjen er en modificeret version af Madin-Darby Canine Kidney (MDCK)-cellerne, der er konstrueret til at udtrykke højere niveauer af human 2,6-sialyltransferase (SIAT1). Dette enzym er ansvarligt for tilføjelsen af sialinsyre i en alfa-2,6-binding til galactose på glykoproteiner og glykolipider. Modifikationen blev udført for at øge udtrykket af alfa-2,6-bundne sialinsyrer, som er de primære receptorer for humane influenzavirus. Denne forbedring er kritisk, da den gør MDCK-SIAT1-cellerne mere lig det menneskelige luftvejsepitel, som naturligt har en høj koncentration af disse receptorer. Som følge heraf tilbyder disse celler en mere fysiologisk relevant model til undersøgelse af humane influenzavirus og deres interaktioner med potentielle antivirale forbindelser.

En af de vigtigste anvendelser af MDCK-SIAT1-celler er vurderingen af influenzavirus' følsomhed over for neuraminidasehæmmere (NAI'er) som f.eks. oseltamivir. På grund af den øgede tilstedeværelse af alfa-2,6-bundne sialinsyrer udviser MDCK-SIAT1-cellerne forbedret følsomhed over for NAI'er sammenlignet med umodificerede MDCK-celler. Det gør dem til et fremragende værktøj til at påvise resistens over for disse inhibitorer, især i kliniske isolater af humane influenzavirus med lavt passageantal. MDCK-SIAT1-cellelinjen giver mulighed for mere nøjagtige in vitro-undersøgelser af lægemidlers effektivitet og virale receptorinteraktioner, hvilket giver værdifuld indsigt i udviklingen af antivirale terapier og resistensmekanismer.

Organism Hund

Tissue Nyre

Karakteristika

Breed/Subspecies Cocker Spaniel

Age Voksen

Gender Kvinde

Morphology Epitelial

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation MDCK-SIAT1 (Cytion katalognummer 602281)

Biosafety level 2

MDCK-SIAT1-celler | 602281**NCBI_TaxID** 9615**CellosaurusAccession** CVCL_Z936**GMO Status** GMO-S1: Denne epitheliale nyrecellelinje fra hunde (MDCK-SIAT1) indeholder en pcDNA3.1GS-konstruktion, der koder for human 2,6-sialyltransferase (SIAT1), hvilket muliggør udtryk af menneskelignende sialyleringsmønstre. Indsatsen er stabilt til stede i MDCK-celler. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Protein expression** Overført med ST6 beta-galactosid alfa-2,6-sialyltransferase 1 (ST6GAL1, SIAT1)**Håndtering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS og 1 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 21 til 31 timer**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Seeding density** 2 til 4×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

MDCK-SIAT1-celler | 602281

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

MDCK-SIAT1-celler | 602281

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.