

MDCK-SIAT1-Zellen | 602281

Allgemeine Informationen

Description

Bei der MDCK-SIAT1-Zelllinie handelt es sich um eine modifizierte Version der Madin-Darby Canine Kidney (MDCK)-Zellen, die so verändert wurde, dass sie eine höhere Expression der menschlichen 2,6-Sialyltransferase (SIAT1) aufweist. Dieses Enzym ist für die Anlagerung von Sialinsäure in einer alpha-2,6-Bindung an Galaktose auf Glykoproteinen und Glykolipiden verantwortlich. Die Veränderung wurde durchgeführt, um die Expression von alpha-2,6-verknüpften Sialinsäuren zu erhöhen, die die primären Rezeptoren für menschliche Influenzaviren sind. Diese Verstärkung ist von entscheidender Bedeutung, da sie die MDCK-SIAT1-Zellen dem menschlichen Atemwegsepithel ähnlicher macht, das von Natur aus eine hohe Konzentration dieser Rezeptoren aufweist. Daher bieten diese Zellen ein physiologisch relevanteres Modell für die Untersuchung menschlicher Influenzaviren und ihrer Wechselwirkungen mit potenziellen antiviralen Wirkstoffen.

Eine der wichtigsten Anwendungen von MDCK-SIAT1-Zellen ist die Bewertung der Empfindlichkeit von Influenzaviren gegenüber Neuraminidase-Inhibitoren (NAI), wie Oseltamivir. Aufgrund des erhöhten Vorkommens von alpha-2,6-verknüpften Sialinsäuren zeigen die MDCK-SIAT1-Zellen im Vergleich zu unveränderten MDCK-Zellen eine verbesserte Empfindlichkeit gegenüber NAIs. Dies macht sie zu einem ausgezeichneten Instrument für den Nachweis von Resistenzen gegen diese Inhibitoren, insbesondere bei klinischen Isolaten humaner Influenzaviren mit geringer Durchgangszahl. Die MDCK-SIAT1-Zelllinie ermöglicht genauere In-vitro-Untersuchungen der Wirksamkeit von Arzneimitteln und der Wechselwirkungen mit viralen Rezeptoren, was wertvolle Einblicke in die Entwicklung antiviraler Therapien und Resistenzmechanismen ermöglicht.

Organism Canine

Tissue Niere

Merkmale

Breed/Subspecies Cocker Spaniel

Age Erwachsener

Gender Weiblich

Morphology Epithelial

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

Citation MDCK-SIAT1 (Cytion Katalognummer 602281)

MDCK-SIAT1-Zellen | 602281

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9615

CellosaurusAccession CVCL_Z936

GMO Status GMO-S1: Diese epitheliale Nierenzelllinie des Hundes (MDCK-SIAT1) enthält ein pcDNA3.1GS-Konstrukt, das für die humane 2,6-Sialyltransferase (SIAT1) kodiert und die Expression humanähnlicher Sialylierungsmuster ermöglicht. Das Insert ist in MDCK-Zellen stabil vorhanden. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Protein expression Transfiziert mit ST6 beta-Galactosid alpha-2,6-Sialyltransferase 1 (ST6GAL1, SIAT1)

Handhabung

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS und 1mg/ml G418

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 21 bis 31 Stunden

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Split ratio Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:10 bis 1:20.

Seeding density 2 bis 4 x 10⁴ Zellen/cm²

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

MDCK-SIAT1-Zellen | 602281

Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärennten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

MDCK-SIAT1-Zellen | 602281

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.