

Κύτταρα MDCK-SIAT1 | 602281

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά MDCK-SIAT1 είναι μια τροποποιημένη έκδοση των κυττάρων Madin-Darby Canine Kidney (MDCK), που έχει τροποποιηθεί ώστε να εκφράζει υψηλότερα επίπεδα ανθρώπινης 2,6-σιαλυλτρανσφεράσης (SIAT1). Αυτό το ένζυμο είναι υπεύθυνο για την προσθήκη σιαλικού οξέος σε σύνδεση α-2,6 με γαλακτόζη σε γλυκοπρωτεΐνες και γλυκολιπίδια. Η τροποποίηση πραγματοποιήθηκε με σκοπό την αύξηση της έκφρασης των σιαλικών οξέων που συνδέονται με α-2,6, τα οποία αποτελούν τους πρωταρχικούς υποδοχείς για τους ιούς της ανθρώπινης γρίπης. Η ενίσχυση αυτή είναι κρίσιμη, καθώς καθιστά τα κύτταρα MDCK-SIAT1 πιο όμοια με το ανθρώπινο επιθήλιο των αεραγωγών, το οποίο έχει φυσικά υψηλή συγκέντρωση αυτών των υποδοχέων. Ως αποτέλεσμα, τα κύτταρα αυτά προσφέρουν ένα πιο φυσιολογικά σχετικό μοντέλο για τη μελέτη των ιών της ανθρώπινης γρίπης και των αλληλεπιδράσεών τους με πιθανές αντιικές ενώσεις.

Μία από τις σημαντικές εφαρμογές των κυττάρων MDCK-SIAT1 είναι η αξιολόγηση της ευαισθησίας του ιού της γρίπης στους αναστολείς της νευραμινιδάσης (NAIs), όπως η οσελταμιβίρη. Λόγω της αυξημένης παρουσίας α-2,6-συνδεδεμένων σιαλικών οξέων, τα κύτταρα MDCK-SIAT1 επιδεικνύουν βελτιωμένη ευαισθησία στους NAIs σε σύγκριση με τα μη τροποποιημένα κύτταρα MDCK. Αυτό τα καθιστά ένα εξαιρετικό εργαλείο για την ανίχνευση της αντοχής σε αυτούς τους αναστολείς, ιδίως σε κλινικές απομονώσεις ιών της ανθρώπινης γρίπης με χαμηλό αριθμό διελεύσεων. Η κυτταρική σειρά MDCK-SIAT1 επιτρέπει ακριβέστερες in vitro μελέτες της αποτελεσματικότητας των φαρμάκων και των αλληλεπιδράσεων των ιικών υποδοχέων, παρέχοντας πολύτιμες πληροφορίες για την ανάπτυξη αντιικών θεραπειών και μηχανισμών αντοχής.

Organism Σκύλος

Tissue Νεφρός

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies Cocker Spaniel

Age Ενηλίκων

Gender Γυναίκα

Morphology Επιθηλιακό

Growth properties Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation MDCK-SIAT1 (αριθμός καταλόγου Cytion 602281)

Biosafety level 2

Κύτταρα MDCK-SIAT1 | 602281**NCBI_TaxID** 9615**CellosaurusAccession** CVCL_Z936**GMO Status** GMO-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά επιθηλιακών νεφρών σκύλου (MDCK-SIAT1) περιέχει μια κατασκευή pcDNA3.1GS που κωδικοποιεί την ανθρώπινη 2,6-σιαλυλτρανσφεράση (SIAT1), επιτρέποντας την έκφραση μοτίβων σιαλυλίωσης που μοιάζουν με τα ανθρώπινα. Το ένθεμα είναι σταθερά παρόν σε κύτταρα MDCK. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.**Βιομοριακά δεδομένα****Protein expression** Διαμολυσμένο με ST6 β-γαλακτοσιδική α-2,6-σιαλυλτρανσφεράση 1 (ST6GAL1, SIAT1)**Χειρισμός****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM πυρροβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 21 έως 31 ώρες**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.**Seeding density** 2 έως 4 x 10⁴ κύτταρα/cm²**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα MDCK-SIAT1 | 602281**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα MDCK-SIAT1 | 602281

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.