

MDCK-SIAT1 sejtek | 602281

Általános információk

Description

Az MDCK-SIAT1 sejtvonal a Madin-Darby Canine Kidney (MDCK) sejtek módosított változata, amelyet úgy alakítottak ki, hogy nagyobb mértékben expresszálja a humán 2,6-szialiltranszferázt (SIAT1). Ez az enzim felelős a szialinsav alfa-2,6 kötésben történő galaktózhoz való hozzáadásáért a glikoproteineken és glikolipideken. A módosítást azért végezték, hogy növeljék az alfa-2,6 kötésű szialsavak expresszióját, amelyek a humán influenzavírusok elsődleges receptorai. Ez a fokozás kritikus jelentőségű, mivel az MDCK-SIAT1 sejteket az emberi légúti epitéliumhoz teszi hasonlóbbá, amely természetesen nagy koncentrációban tartalmazza ezeket a receptorokat. Ennek eredményeként ezek a sejtek fiziológiailag relevánsabb modellt kínálnak a humán influenzavírusok és a potenciális antivirális vegyületekkel való kölcsönhatásaik tanulmányozásához.

Az MDCK-SIAT1 sejtek egyik jelentős alkalmazása az influenzavírus neuraminidáz-gátlókkal (NAI), például az oseltamivirrel szembeni érzékenységének felmérése. Az alfa-2,6 kötésű szialsavak fokozott jelenléte miatt az MDCK-SIAT1 sejtek jobb érzékenységet mutatnak a NAI-kkal szemben, mint a nem módosított MDCK sejtek. Ezáltal kiváló eszközzé válnak az ilyen inhibitorokkal szembeni rezisztencia kimutatására, különösen a humán influenzavírusok alacsony átjárási számú klinikai izolátumaiban. Az MDCK-SIAT1 sejtvonal lehetővé teszi a gyógyszerek hatékonyságának és a vírusreceptorok kölcsönhatásainak pontosabb in vitro vizsgálatát, értékes betekintést nyújtva a vírusellenes terápiák és a rezisztencia mechanizmusainak fejlesztésébe.

Organism Kutyák

Tissue Vese

Jellemzők

Breed/Subspecies Cocker spániel

Age Felnőtt

Gender Női

Morphology Epithelialis

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation MDCK-SIAT1 (Cytion katalógusszám 602281)

Biosafety level 2

MDCK-SIAT1 sejtek | 602281

NCBI_TaxID 9615

CellosaurusAccession CVCL_Z936

GMO Status GMO-S1: Ez a kutya epiteliális vesesejtvonal (MDCK-SIAT1) egy humán 2,6-szialil-transzferáz (SIAT1) kódoló pcDNS3.1GS konstrukciót tartalmaz, amely lehetővé teszi az emberhez hasonló szialilációs mintázatok kifejeződését. Az inzert stabilan jelen van az MDCK sejtekben. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.

Biomolekuláris adatok

Protein expression ST6 béta-galaktozid-alfa-2,6-szialil-transzferáz 1 (ST6GAL1, SIAT1) transzfektálták

A kezelése

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel és 1 mg/ml G418-mal

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 21-31 óra

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percre hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percre. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Seeding density 2-4 x 10⁴ sejt/cm²

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

MDCK-SIAT1 sejtek | 602281

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

MDCK-SIAT1 sejtek | 602281

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.