

MDCK-SIAT1 šūnas | 602281

Vispārīga informācija

Description

MDCK-SIAT1 šūnu līnija ir modificēta Madina-Darbi suņu nieru (MDCK) šūnu versija, kas izveidota, lai palielinātu cilvēka 2,6-sialiltransferāzes (SIAT1) ekspresijas līmeni. Šis enzīms ir atbildīgs par siālskābes pievienošanu alfa-2,6 savienojumā ar galaktozi uz glikoproteīniem un glikolipīdiem. Modifikācija tika veikta, lai palielinātu alfa-2,6 saistīto siālskābju, kas ir cilvēka gripas vīrusu galvenie receptori, ekspresiju. Šāda palielināšana ir ļoti svarīga, jo tā padara MDCK-SIAT1 šūnas līdzīgākas cilvēka elpceļu epitēlijam, kurā dabiski ir augsta šo receptoru koncentrācija. Rezultātā šīs šūnas ir fizioloģiski atbilstošāks modelis cilvēka gripas vīrusu un to mijiedarbības ar potenciālajiem pretvīrusu savienojumiem izpētei.

Viens no nozīmīgiem MDCK-SIAT1 šūnu lietojumiem ir gripas vīrusu jutības pret neiraminidāzes inhibitoriem (NAI), piemēram, oseltamiviru, novērtēšana. MDCK-SIAT1 šūnas, pateicoties paaugstinātai alfa-2,6 saistīto siālskābju klātbūtnei, salīdzinājumā ar nemodificētām MDCK šūnām uzrāda lielāku jutību pret NAI. Tas padara tās par lielisku līdzekli rezistences noteikšanai pret šiem inhibitoriem, jo īpaši cilvēka gripas vīrusu klīniskajos izolātos ar mazu caurlaides skaitu. MDCK-SIAT1 šūnu līnija ļauj veikt precīzākus zāļu efektivitātes un vīrusu receptoru mijiedarbības pētījumus in vitro, sniedzot vērtīgu ieskatu pretvīrusu terapijas un rezistences mehānismu izstrādē.

Organism Suņu

Tissue Nieres

Raksturojums

Breed/Subspecies Kokerspaniels

Age Pieaugušo

Gender Sievietes

Morphology Epitēlija

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation MDCK-SIAT1 (Cytion kataloga numurs 602281)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9615

MDCK-SIAT1 šūnas | 602281

CellosaurusAccession CVCL_Z936**GMO Status** GMO-S1: Šī suņu epitēlija nieru šūnu līnija (MDCK-SIAT1) satur pcDNA3.1GS konstruktus, kas kodē cilvēka 2,6-sialiltransferāzi (SIAT1), kas ļauj izteikt cilvēkam līdzīgus sialilizācijas modeļus. Inserts ir stabili ievietots MDCK šūnās. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

Biomolekulārie dati

Protein expression Transfekēti ar ST6 beta-galaktozīda alfa-2,6-sialiltransferāzi 1 (ST6GAL1, SIAT1)

Darbs ar

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildiniet barotni ar 10% FBS un 1 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 21 līdz 31 stunda**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Seeding density** 2 līdz 4 x 10⁴ šūnas/cm²**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanu un samazinātu krioinducēto stresu.

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

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

MDCK-SIAT1 šūnas | 602281

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.