

MDCK-SIAT1-celler | 602281

Generell informasjon

Description

MDCK-SIAT1-cellelinjen er en modifisert versjon av Madin-Darby Canine Kidney (MDCK)-celler, som er konstruert for å uttrykke høyere nivåer av human 2,6-sialyltransferase (SIAT1). Dette enzymet er ansvarlig for tilsetning av sialinsyre i en alfa-2,6-binding til galaktose på glykoproteiner og glykolipider. Modifikasjonen ble utført for å øke ekspresjonen av alfa-2,6-bundne sialinsyrer, som er de primære reseptorene for humane influensavirus. Denne forbedringen er avgjørende fordi den gjør MDCK-SIAT1-cellene mer like det humane luftveisepitelet, som naturlig har en høy konsentrasjon av disse reseptorene. Dermed er disse cellene en mer fysiologisk relevant modell for studier av humane influensavirus og deres interaksjon med potensielle antivirale forbindelser.

En av de viktigste anvendelsene av MDCK-SIAT1-celler er i vurderingen av influensavirusets følsomhet overfor neuroaminidasehemmere (NAI), som oseltamivir. På grunn av den økte forekomsten av alfa-2,6-koblede sialinsyrer viser MDCK-SIAT1-cellene økt følsomhet overfor NAI-er sammenlignet med umodifiserte MDCK-celler. Dette gjør dem til et utmerket verktøy for å påvise resistens mot disse inhibitorene, spesielt i kliniske isolater av humane influensavirus med lavt passasjetall. MDCK-SIAT1-cellelinjen muliggjør mer nøyaktige in vitro-studier av medikamenteffektivitet og interaksjoner mellom virusreseptorer, noe som gir verdifull innsikt i utviklingen av antivirale terapier og resistensmekanismer.

Organism Hund

Tissue Nyre

Kjennetegn

Breed/Subspecies Cocker Spaniel

Age Voksen

Gender Kvinne

Morphology Epitelial

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation MDCK-SIAT1 (Cytion katalognummer 602281)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9615

MDCK-SIAT1-celler | 602281**CellosaurusAccession** CVCL_Z936**GMO Status** GMO-S1: Denne epiteliale nyrecellelinjen fra hund (MDCK-SIAT1) inneholder et pcDNA3.1GS-konstrukt som koder for human 2,6-sialyltransferase (SIAT1), noe som muliggjør uttrykk av menneskelignende sialyleringsmønstre. Innsettet er stabilt til stede i MDCK-celler. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Protein expression** Transfektet med ST6 beta-galaktosid alfa-2,6-sialyltransferase 1 (ST6GAL1, SIAT1)**Håndtering****Culture Medium** DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 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 mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** Et forhold på 1:10 til 1:20 anbefales.**Seeding density** 2 til 4×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundersert stress.

MDCK-SIAT1-celler | 602281

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

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

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

MDCK-SIAT1-celler | 602281

**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.