

MDCK-SIAT1-celler | 602281

Allmän information

Description

MDCK-SIAT1-cellinjen är en modifierad version av Madin-Darby Canine Kidney (MDCK)-cellerna, konstruerade för att uttrycka högre nivåer av humant 2,6-sialyltransferas (SIAT1). Detta enzym är ansvarigt för tillsatsen av sialinsyra i en alfa-2,6-bindning till galaktos på glykoproteiner och glykolipider. Modifieringen utfördes för att öka uttrycket av alfa-2,6-länkade sialinsyror, som är de primära receptorerna för mänskliga influensavirus. Denna förstärkning är avgörande eftersom den gör MDCK-SIAT1-cellerna mer lika det mänskliga luftvägsepitelet, som naturligt har en hög koncentration av dessa receptorer. Som ett resultat erbjuder dessa celler en mer fysiologiskt relevant modell för att studera mänskliga influensavirus och deras interaktioner med potentiella antivirala föreningar.

Ett av de viktigaste användningsområdena för MDCK-SIAT1-celler är att bedöma influensavirusets känslighet för neuraminidashämmare (NAI), t.ex. oseltamivir. På grund av den ökade förekomsten av alfa-2,6-länkade sialinsyror uppvisar MDCK-SIAT1-cellerna en förbättrad känslighet för NAI:er jämfört med omodifierade MDCK-celler. Detta gör dem till ett utmärkt verktyg för att upptäcka resistens mot dessa hämmare, särskilt i kliniska isolat av humana influensavirus med lågt passagennummer. MDCK-SIAT1-cellinjen möjliggör mer exakta in vitro-studier av läkemedelseffektivitet och interaktioner mellan virusreceptorer, vilket ger värdefulla insikter i utvecklingen av antivirala behandlingar och resistensmekanismer.

Organism Hund

Tissue Njurur

Egenskaper

Breed/Subspecies Cocker Spaniel

Age Vuxen

Gender Kvinna

Morphology Epitelial

Growth properties Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation MDCK-SIAT1 (Cytion katalognummer 602281)

Biosafety level 2

MDCK-SIAT1-celler | 602281

NCBI_TaxID 9615

CellosaurusAccession CVCL_Z936

GMO Status GMO-S1: Denna epiteliala njurcellinje från hund (MDCK-SIAT1) innehåller en pcDNA3.1GS-konstruktion som kodar för humant 2,6-sialyltransferas (SIAT1), vilket möjliggör uttryck av humanliknande sialyleringsmönster. Insatsen är stabilt närvarande i MDCK-celler. Denna klassificering gäller endast i Tyskland och kan skilja sig åt i andra länder.

Biomolekylära data

Protein expression Transfekterad med ST6 beta-galaktosid alfa-2,6-sialyltransferas 1 (ST6GAL1, SIAT1)

Hantering

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements Komplettera mediet med 10% FBS och 1 mg/ml G418

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 21 till 31 timmar

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Split ratio Ett förhållande på 1:10 till 1:20 rekommenderas.

Seeding density 2 till 4×10^4 celler/cm²

Fluid renewal 2 till 3 gånger per vecka

MDCK-SIAT1-celler | 602281

Freeze medium

Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfrysad vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeskuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

MDCK-SIAT1-celler | 602281

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.