

Celice MDCK-SIAT1 | 602281

Splošne informacije

Description

Celična linija MDCK-SIAT1 je spremenjena različica celic Madin-Darby Canine Kidney (MDCK), ki so bile oblikovane tako, da izražajo višje ravni človeške 2,6-sialiltransferaze (SIAT1). Ta encim je odgovoren za dodajanje sialne kisline v povezavi alfa-2,6 na galaktozo na glikoproteine in glikolipide. Modifikacija je bila izvedena za povečanje izražanja sialnih kislin, vezanih na alfa-2,6, ki so glavni receptorji za viruse človeške gripe. To povečanje je ključnega pomena, saj so celice MDCK-SIAT1 zaradi tega bolj podobne epiteliju človeških dihalnih poti, ki ima naravno visoko koncentracijo teh receptorjev. Posledično te celice ponujajo fiziološko ustrežnejši model za preučevanje virusov človeške gripe in njihovih interakcij s potencialnimi protivirusnimi spojinami.

Ena od pomembnih aplikacij celic MDCK-SIAT1 je ocenjevanje občutljivosti virusov gripe na zaviralce nevraminidaze (NAI), kot je oseltamivir. Zaradi povečane prisotnosti alfa-2,6 vezanih sialičnih kislin celice MDCK-SIAT1 izkazujejo večjo občutljivost na NAI v primerjavi z nemodificiranimi celicami MDCK. Zaradi tega so odlično orodje za odkrivanje odpornosti na te zaviralce, zlasti pri kliničnih izolatih človeških virusov gripe z nizkim številom prehodov. Celična linija MDCK-SIAT1 omogoča natančnejše in vitro študije učinkovitosti zdravil in interakcij z virusnimi receptorji, kar zagotavlja dragocen vpogled v razvoj protivirusnih terapij in mehanizmov odpornosti.

Organism Pasja

Tissue Ledvice

Značilnosti

Breed/Subspecies Kokeršpanjel

Age Odrasli

Gender Ženske

Morphology Epitelijski

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation MDCK-SIAT1 (kataloška številka Cytion 602281)

Biosafety level 2

Celice MDCK-SIAT1 | 602281**NCBI_TaxID** 9615**CellosaurusAccession** CVCL_Z936**GMO Status** GSO-S1: Ta linija epitelijskih ledvičnih celic (MDCK-SIAT1) vsebuje konstrukt pcDNA3.1GS, ki kodira človeško 2,6-sialiltransferazo (SIAT1), kar omogoča izražanje človeku podobnih sialilacijskih vzorcev. Vstavek je stabilno prisoten v celicah MDCK. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.**Biomolekularni podatki****Protein expression** Transfundirani s ST6 beta-galaktozid alfa-2,6-sialiltransferazo 1 (ST6GAL1, SIAT1)**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 21 do 31 ur**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Seeding density** 2 do 4 x 10⁴ celic/cm²**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Celice MDCK-SIAT1 | 602281

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice MDCK-SIAT1 | 602281

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.