

Клітини MDCK-SIAT1 | 602281

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія MDCK-SIAT1 - це модифікована версія клітин собачої нирки Мадіна-Дарбі (MDCK), сконструйована для експресії більш високого рівня людської 2,6-сіалілтрансферази (SIAT1). Цей фермент відповідає за приєднання сіалової кислоти в альфа-2,6 зв'язку до галактози на глікопротеїнах та гліколіпідах. Модифікація була проведена з метою підвищення експресії альфа-2,6-зв'язаних сіалових кислот, які є первинними рецепторами для вірусів грипу людини. Це покращення є критично важливим, оскільки робить клітини MDCK-SIAT1 більш схожими на епітелій дихальних шляхів людини, який природно має високу концентрацію цих рецепторів. Як наслідок, ці клітини є більш фізіологічно релевантною моделлю для вивчення вірусів грипу людини та їх взаємодії з потенційними противірусними сполуками.

Одне з важливих застосувань клітин MDCK-SIAT1 полягає в оцінці чутливості вірусу грипу до інгібіторів нейрамінідази (NAI), таких як озельтамівір. Завдяки підвищеній присутності альфа-2,6-зв'язаних сіалових кислот клітини MDCK-SIAT1 демонструють підвищену чутливість до NAI порівняно з немодифікованими MDCK-клітинами. Це робить їх чудовим інструментом для виявлення резистентності до цих інгібіторів, особливо у клінічних ізолятів вірусів грипу людини з низькою кількістю пасажів. Клітинна лінія MDCK-SIAT1 дозволяє проводити більш точні дослідження *in vitro* ефективності ліків та взаємодії з вірусними рецепторами, що дає цінну інформацію для розробки противірусної терапії та механізмів резистентності.

Organism Собачий

Tissue Нирка

Характеристики

Breed/Subspecies Кокер-спаніель

Age Дорослий

Gender Жінка

Morphology Епітеліальний

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation MDCK-SIAT1 (номер за каталогом Cytion 602281)

Biosafety level 2

Клітини MDCK-SIAT1 | 602281

NCBI_TaxID 9615

CellosaurusAccession CVCL_Z936

GMO Status ГМО-S1: Ця лінія епітеліальних клітин нирок собак (MDCK-SIAT1) містить конструкцію pсDNA3.1GS, що кодує людську 2,6-сіалілтрансферазу (SIAT1), яка дозволяє експресувати патерни сіалілювання, подібні до людських. Вставка стабільно присутня в клітинах MDCK. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятись в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Protein expression Трансфіковані бета-галактозид альфа-2,6-сіалілтрансферазою 1 (ST6GAL1, SIAT1)

Обробка

Culture Medium ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO₃, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)

Supplements Додайте до середовища 10% FBS та 1 мг/мл G418

Dissociation Reagent Аккутаза

Doubling time 21 до 31 години

Subculturing Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Seeding density Від 2 до 4 x 10⁴ клітин/см²

Fluid renewal 2-3 рази на тиждень

Freeze medium Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

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

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини MDCK-SIAT1 | 602281

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.