Product sheet

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-спанієль
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 pcDNA3.1GS, 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 відрізнятися 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 10^4 клітин/см2
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-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, зануривши 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 x 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. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній 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 перевіреній 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, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.