MDCK-SIAT1

602281

ÜLDINE TEAVE

Kirjeldus

MDCK-SIAT1 rakuliin on Madin-Darby Canine Kidney (MDCK) rakkude modifitseeritud versioon, mis on loodud inimese 2,6-sitalüültransferaasi (SIAT1) kõrgema taseme ekspresseerimiseks. See ensüüm vastutab siaalhappe liitumise eest alfa-2,6 sidemetega galaktoosile glükoproteiinidel ja glükolipiididel. Modifikatsioon viidi läbi, et suurendada alfa-2,6-ühendatud siaalhapete ekspressiooni, mis on inimese gripiviiruste esmased retseptorid. See suurendamine on oluline, sest see muudab MDCK-SIAT1 rakud sarnasemaks inimese hingamisteede epiteelile, kus on looduslikult suur kontsentratsioon neid retseptoreid. Selle tulemusena pakuvad need rakud füsioloogiliselt asjakohasemat mudelit inimese gripiviiruste ja nende koostoimete uurimiseks võimalike viirusevastaste ühenditega.
MDCK-SIAT1 rakkude üks olulisi rakendusi on gripiviiruse tundlikkuse hindamine neuraminidaasi inhibiitorite (NAI), näiteks oseltamiviiri suhtes. Tänu alfa-2,6-ühendatud siaalhapete suurenenud sisaldusele on MDCK-SIAT1 rakud võrreldes modifitseerimata MDCK rakkudega tundlikumad NAI-de suhtes. See muudab nad suurepäraseks vahendiks nende inhibiitorite suhtes resistentsuse tuvastamiseks, eriti inimeste gripiviiruste kliiniliste isolaatide madala läbilaskevõimega isolaatides. MDCK-SIAT1 rakuliin võimaldab täpsemaid in vitro uuringuid ravimite tõhususe ja viiruse retseptorite koostoimete kohta, andes väärtuslikke teadmisi viirusevastaste ravimeetodite ja resistentsuse mehhanismide väljatöötamise kohta.

Kude	Neerud

KLASSIFIKATSIOON

Organism	Koer
Sugu	Naine
Kasvuvõime	Järgija
GMO-staatus	GMO-S1

GMO-staatuse üksikasjad

GMO-S1: This canine epithelial kidney cell line (MDCK-SIAT1) contains a pcDNA3.1GS construct encoding human 2,6-sialyltransferase (SIAT1), enabling expression of human-like sialylation patterns. The insert is stably present in MDCK cells. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Bioloogilise ohutuse tase	2

OMADUSED

Morfoloogia	Epiteel
Kahekordistumisaeg	21 kuni 31 tundi

TUNNUSED

Viide

MDCK-SIAT1 (Cytioni kataloginumber 602281)

NCBI maksukood	9615
Cellosaurus	CVCL_Z936

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

AVALDUMINE JA VASTUVÕTLIKKUS

Valgu ekspressioon

Transfekteeritud ST6 beeta-galaktosiidi alfa-2,6-sitalüültransferaasiga 1 (ST6GAL1, SIAT1)

KÄSITLEMINE JA KASVATAMINE

Kasvatuskeskkond

DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

Inkubatsiooni keskkond	37°C, 5%CO2, niisutatud atmosfäär.

Toidulisandid

Täiendada söötme 10% FBS ja 1 mg/ml G418-ga

Dissotsiatsioonireaktiiv	Accutase

Kultuuri edasikasvatamine

Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Külvitihedus	2 kuni 4 x 10^4 rakku/cm^2
Vedeliku vahetus	2 kuni 3 korda nädalas

Sulatamine ja kasvatamine

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KVALITEEDIKONTROLL JA KRÜOKONSERVEERIMINE

Viljatus

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.
Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

Külmutuskeskkond	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Säilitamistingimused

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

Tarne- ja kohaletoimetamistingimused

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

ANNETAJA

Tõug / alamliik	Cocker-spanjel
Doonori vanus	Täiskasvanud

ÕIGUSLIKUD JA OHUTUSALASED KÜSIMUSED

Ohutusnõuded

Kui plaanitakse krüoviaalide säilitamist vedelas lämmastikus tulevase sulatamise eesmärgil, on kohustuslik järgida rangeid ohutusmeetmeid. Asjakohased kaitsekindad ja -riietus on hädavajalikud ning külmutatud proovide vedela lämmastiku mahutisse või mahutist väljaviimisel tuleb kasutada näomaski või kaitseprille. See on vajalik selleks, et vähendada vigastuste ohtu, mis tuleneb võimalikest krüoviaalide plahvatustest eemaldamisel, mille tagajärjel võivad välja paiskuda teravad killud.

Vastutuse välistamine

Meie rakud on ette nähtud üksnes in vitro laboratoorseks uurimistööks ning need ei ole mõeldud kliiniliseks või diagnostiliseks kasutamiseks, samuti ei tohi neid manustada inimestele ega kasutada veterinaarsetel eesmärkidel. Kasutajad peavad järgima kõiki kohaldatavaid suuniseid ja eeskirju nende rakkude käitlemise ja kasutamise kohta teadusuuringutes.

Garantii

Cytion seisab oma toodete kvaliteedi ja elujõulisuse eest.
Me garanteerime, et meie rakud on elujõulised kasvatamise alguses 60 päeva jooksul pärast meie rajatistest saatmist.
Tagame, et kõik materjalid vastavad analüüsisertifikaadis ja/või tootelehel kirjeldatud spetsifikatsioonidele
Täielikke üksikasju leiate meie <a href="""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang="""x-default"">Tagatise avaldusest

Vajalik on materjalide üleandmise leping	Yes