MDCK-SIAT1

602281

YLEISTÄ TIETOA

Kuvaus

MDCK-SIAT1-solulinja on muunnettu versio Madin-Darby Canine Kidney (MDCK) -soluista, jotka on muunnettu ilmentämään suurempia määriä ihmisen 2,6-salyyttitransferaasia (SIAT1). Tämä entsyymi vastaa sialiinihapon lisäämisestä alfa-2,6-kytkennässä galaktoosiin glykoproteiineissa ja glykolipideissä. Muunnos tehtiin, jotta voitaisiin lisätä alfa-2,6-sidoksissa olevien sialiinihappojen ilmentymistä, jotka ovat ihmisen influenssavirusten ensisijaisia reseptoreita. Tämä lisäys on ratkaisevan tärkeää, koska se tekee MDCK-SIAT1-soluista samanlaisempia kuin ihmisen hengitysteiden epiteeli, jossa näitä reseptoreita on luonnostaan runsaasti. Näin ollen nämä solut tarjoavat fysiologisesti relevantin mallin ihmisen influenssavirusten ja niiden vuorovaikutuksen tutkimiseen mahdollisten viruslääkkeiden kanssa. Yksi MDCK-SIAT1-solujen merkittävistä sovelluksista on influenssavirusten herkkyyden arviointi neuraminidaasin estäjille (NAI), kuten oseltamiviirille. Koska MDCK-SIAT1-solut sisältävät enemmän alfa-2,6-sidoksissa olevia sialiinihappoja, niiden herkkyys NAI:ille on parempi kuin muokkaamattomien MDCK-solujen. Tämä tekee niistä erinomaisen välineen resistenssin havaitsemiseen näitä inhibiittoreita vastaan, erityisesti ihmisen influenssavirusten kliinisissä isolaateissa, joiden läpivirtausluku on alhainen. MDCK-SIAT1-solulinjan avulla voidaan tehdä tarkempia in vitro -tutkimuksia lääkkeiden tehosta ja virusreseptorien vuorovaikutuksesta, mikä antaa arvokasta tietoa viruslääkehoitojen ja resistenssimekanismien kehittämisestä.

Kudos	Munuaiset

LUOKITTELU

Organismi	Koira
Sukupuoli	Nainen
Kasvuominaisuudet	Kiinnittynyt
GMO-status	GMO-S1

GMO-statuksen tiedot

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.

Bioturvallisuustaso	2

OMINAISUUDET

Morfologia	Epiteeli
Kaksinkertaistumisaika	21-31 tuntia

TUNNISTEET

Lähdeviite

MDCK-SIAT1 (Cytionin luettelonumero 602281)

NCBI-verotunnus	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

ILMENTYMINEN JA ALTTIUS

Proteiinin ilmentyminen

Transfektoitu ST6-beeta-galaktosidin alfa-2,6-salyyttitransferaasi 1:llä (ST6GAL1, SIAT1)

KÄSITTELY JA VILJELY

Viljelyalusta

DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

Inkubaatioilma	37 °C, 5 %CO2, kostutettu ilmakehä.

Ravintolisät

Lisätään elatusaineeseen 10 % FBS:ää ja 1 mg/ml G418:aa

Dissosiaatioreagenssi	Accutase

Soluviljely

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Kylvötiheys	2–4 x 10^4 solua/cm^2
Nesteen uusiminen	2-3 kertaa viikossa

Sulatus ja viljely

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.

LAADUNVALVONTA JA KRYOSÄILYTYS

Hedelmättömyys

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.
Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

Jäädytysaine	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Säilytysolosuhteet

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

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

Toimitusehdot

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

LAHJOITTAJA

Rotua / alalajia	Cockerspanieli
Luovuttajan ikä	Aikuiset

OIKEUDELLISET JA TURVALLISUUSASIAT

Turvallisuusohjeet

Kun suunnitellaan kryoputken säilyttämistä nestemäisessä typessä sulatusta varten, on noudatettava tiukkoja turvatoimenpiteitä. Asianmukaiset suojakäsineet ja -vaatteet ovat välttämättömiä, ja kasvonaamarin tai suojalasien käyttö on välttämätöntä siirrettäessä jäädytettyjä näytteitä nestetyppisäiliöön tai siitä pois. Tällä pyritään pienentämään loukkaantumisriskiä, joka aiheutuu kryoputkien mahdollisista räjähdyksistä, jotka voivat aiheuttaa terävien sirpaleiden sinkoutumisen.

Vastuuvapauslauseke

Solujamme tarjotaan yksinomaan in vitro -laboratoriotutkimustarkoituksiin, eikä niitä ole tarkoitettu kliiniseen tai diagnostiseen käyttöön, eikä niitä saa antaa ihmisille tai käyttää eläinlääkinnällisiin tarkoituksiin. Käyttäjien on noudatettava kaikkia sovellettavia ohjeita ja määräyksiä, jotka koskevat näiden solujen käsittelyä ja käyttöä tutkimusympäristössä.

Takuu

Me Cytionilla seisomme tuotteidemme laadun ja elinkelpoisuuden takana.
Takaamme, että solumme ovat elinkelpoisia viljelyn alkaessa 60 päivän ajan sen jälkeen, kun ne on lähetetty laitoksestamme.
Vakuutamme, että kaikki materiaalit ovat analyysitodistuksessa ja/tai tuoteselosteessa kuvattujen eritelmien mukaisia
Lisätietoja on <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"""">Takuulausumassa

Aineiden siirtoa koskeva sopimus vaaditaan	Yes

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