MDCK-SIAT1

602281

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

MDCK-SIAT1 šūnu līnija ir modificēta Madina-Darbi suņu nieru (MDCK) šūnu versija, kas izveidota, lai palielinātu cilvēka 2,6-sialiiltransferāzes (SIAT1) ekspresijas līmeni. Šis enzīms ir atbildīgs par siālskābes pievienošanu alfa-2,6 savienojumā ar galaktozi uz glikoproteīniem un glikolipīdiem. Modifikācija tika veikta, lai palielinātu alfa-2,6 saistīto siālskābju, kas ir cilvēka gripas vīrusu galvenie receptori, ekspresiju. Šāda palielināšana ir ļoti svarīga, jo tā padara MDCK-SIAT1 šūnas līdzīgākas cilvēka elpceļu epitēlijam, kurā dabiski ir augsta šo receptoru koncentrācija. Rezultātā šīs šūnas ir fizioloģiski atbilstošāks modelis cilvēka gripas vīrusu un to mijiedarbības ar potenciālajiem pretvīrusu savienojumiem izpētei.
Viens no nozīmīgiem MDCK-SIAT1 šūnu lietojumiem ir gripas vīrusu jutības pret neiraminidāzes inhibitoriem (NAI), piemēram, oseltamiviru, novērtēšana. MDCK-SIAT1 šūnas, pateicoties paaugstinātai alfa-2,6 saistīto siālskābju klātbūtnei, salīdzinājumā ar nemodificētām MDCK šūnām uzrāda lielāku jutību pret NAI. Tas padara tās par lielisku līdzekli rezistences noteikšanai pret šiem inhibitoriem, jo īpaši cilvēka gripas vīrusu klīniskajos izolātos ar mazu caurlaides skaitu. MDCK-SIAT1 šūnu līnija ļauj veikt precīzākus zāļu efektivitātes un vīrusu receptoru mijiedarbības pētījumus in vitro, sniedzot vērtīgu ieskatu pretvīrusu terapijas un rezistences mehānismu izstrādē.

Audums	Nieres

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Suns
Sekss	Sieviete
Augšanas īpašības	Atbalstītājs
ĢMO statuss	GMO-S1

Sīkāka informācija par ĢMO statusu

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.

Bioloģiskās drošības līmenis	2

RAKSTURLIELUMI

Morfoloģija	Epitēlija
Laiks, kas nepieciešams, lai skaits dubultojās	21 līdz 31 stunda

IDENTIFIKATORI

Atsauce

MDCK-SIAT1 (Cytion kataloga numurs 602281)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	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

PAZĪMES UN UZŅĒMĪBA

Proteīnu ekspresija

Transfekēti ar ST6 beta-galaktozīda alfa-2,6-sialilitransferāzi 1 (ST6GAL1, SIAT1)

APSTRĀDE UN AUDZĒŠANA

Barotne

DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

Inkubācijas vide	37°C, 5%CO2, mitrināta atmosfēra.

Papildinājumi

Papildiniet barotni ar 10% FBS un 1 mg/ml G418

Disociācijas reaģents	Accutase

Pārstādīšana

Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Sēšanas blīvums	2 līdz 4 x 10^4 šūnas/cm^2
Šķidruma atjaunošana	2 līdz 3 reizes nedēļā

Atkausēšana un kultivēšana

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.

KVALITĀTES KONTROLE UN KRIOKONSERVĀCIJA

Sterilitāte

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.
Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

Saldēšanas barotne	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Uzglabāšanas nosacījumi

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

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

Piegādes nosacījumi

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

ZIEDOTĀJS

Šķirne / pasuga	Kokerspaniels
Donora vecums	Pieaugušo

JURIDISKIE JAUTĀJUMI UN DROŠĪBA

Drošības pasākumi

Plānojot uzglabāt kriokviālu šķidrā slāpeklī turpmākai atkausēšanai, obligāti jāievēro stingri drošības pasākumi. Ir nepieciešami piemēroti aizsargcimdi un apģērbs, un, pārvietojot sasaldētos paraugus uz šķidrā slāpekļa tvertni vai no tās, ir jālieto sejas maska vai aizsargbrilles. Tas jādara, lai mazinātu traumu risku, ko var radīt iespējamas kriokrioviālu eksplozijas, kas var izraisīt asu fragmentu izmešanu.

Atbrīvojums no atbildības

Mūsu šūnas ir paredzētas tikai in vitro laboratorijas pētījumiem, un tās nav paredzētas klīniskai vai diagnostiskai lietošanai, tās nav ievadāmas cilvēkiem vai izmantojamas veterinārijā. Lietotājiem jāievēro visas piemērojamās vadlīnijas un noteikumi par šo šūnu apstrādi un izmantošanu pētniecībā.

Garantija

Uzņēmumā Cytion mēs atbalstām savu produktu kvalitāti un dzīvotspēju.
Mēs garantējam, ka mūsu šūnas būs dzīvotspējīgas kultivēšanas sākumā 60 dienas pēc nosūtīšanas no mūsu ražotnēm.
Mēs nodrošinām, ka visi materiāli atbilst analīzes sertifikātā un/vai produkta lapā aprakstītajām specifikācijām
Lai iegūtu sīkāku informāciju, lūdzu, skatiet mūsu <a href=""/"/Kas mēs esam/garantija/"" hreflang=""x-default"">Garantijas paziņojumu

Nepieciešams materiālu nodošanas līgums	Yes