

## Sel MDCK-SIAT1 | 602281

## Informasi umum

## Description

Garis sel MDCK-SIAT1 adalah versi modifikasi dari sel Madin-Darby Canine Kidney (MDCK), yang direkayasa untuk mengekspresikan tingkat yang lebih tinggi dari 2,6-sialiltransferase (SIAT1) manusia. Enzim ini bertanggung jawab untuk penambahan asam sialat dalam hubungan alfa-2,6 dengan galaktosa pada glikoprotein dan glikolipid. Modifikasi ini dilakukan untuk meningkatkan ekspresi asam sialat alfa-2,6-linked, yang merupakan reseptor utama untuk virus influenza manusia. Peningkatan ini sangat penting karena membuat sel MDCK-SIAT1 lebih mirip dengan epitel saluran napas manusia, yang secara alami memiliki konsentrasi tinggi reseptor ini. Hasilnya, sel-sel ini menawarkan model yang lebih relevan secara fisiologis untuk mempelajari virus influenza manusia dan interaksinya dengan senyawa antivirus potensial.

Salah satu aplikasi signifikan dari sel MDCK-SIAT1 adalah dalam penilaian sensitivitas virus influenza terhadap inhibitor neuraminidase (NAI), seperti oseltamivir. Karena peningkatan keberadaan asam sialat alfa-2,6-linked, sel MDCK-SIAT1 menunjukkan peningkatan sensitivitas terhadap NAI dibandingkan dengan sel MDCK yang tidak dimodifikasi. Hal ini menjadikannya alat yang sangat baik untuk mendeteksi resistensi terhadap inhibitor ini, terutama pada isolat klinis virus influenza manusia dengan jumlah rendah. Garis sel MDCK-SIAT1 memungkinkan studi in vitro yang lebih akurat tentang kemanjuran obat dan interaksi reseptor virus, memberikan wawasan yang berharga dalam pengembangan terapi antivirus dan mekanisme resistensi.

**Organism** Anjing

**Tissue** Ginjal

## Karakteristik

**Breed/Subspecies** Cocker Spaniel

**Age** Dewasa

**Gender** Perempuan

**Morphology** Epitel

**Growth properties** Patuh

## Data Peraturan

**Citation** MDCK-SIAT1 (Nomor katalog Cytion 602281)

**Biosafety level** 2

## Sel MDCK-SIAT1 | 602281

**NCBI\_TaxID** 9615

**CellosaurusAccession** CVCL\_Z936

**GMO Status** GMO-S1: Garis sel ginjal epitel anjing ini (MDCK-SIAT1) mengandung konstruk pcDNA3.1GS yang mengkodekan 2,6-salisiltransferase manusia (SIAT1), yang memungkinkan ekspresi pola sialilasi seperti manusia. Sisipan ini secara stabil hadir dalam sel MDCK. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.

## Data Biomolekuler

**Protein expression** Ditransfeksi dengan ST6 beta-galaktosida alfa-2,6-sialiltransferase 1 (ST6GAL1, SIAT1)

## Penanganan

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)

**Supplements** Lengkapi media dengan 10% FBS dan 1mg/ml G418

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 21 hingga 31 jam

**Subculturing** Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.

**Seeding density** 2 hingga  $4 \times 10^4$  sel/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 hingga 3 kali per minggu

**Freeze medium** Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

## Sel MDCK-SIAT1 | 602281

### Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah  $-150^{\circ}\text{C}$  untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu  $37^{\circ}\text{C}$  dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada 300 x g selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfer yang dilembapkan.

### Flask Coating

Tidak ada

### Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar  $-78^{\circ}\text{C}$  selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

### Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar  $-78^{\circ}\text{C}$  selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

## Sel MDCK-SIAT1 | 602281

### Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

## Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

### Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.