

**Tế bào MDCK-SIAT1 | 602281****Thông tin chung****Description**

Dòng tế bào MDCK-SIAT1 là phiên bản được biến đổi của dòng tế bào thận chó Madin-Darby (MDCK), được thiết kế để biểu hiện mức độ cao hơn của enzym 2,6-sialyltransferase (SIAT1) của người. Enzym này chịu trách nhiệm cho việc gắn axit sialic theo liên kết alpha-2,6 vào galactose trên các glycoprotein và glycolipid. Sự biến đổi này được thực hiện để tăng cường biểu hiện của axit sialic liên kết alpha-2,6, vốn là các thụ thể chính cho virus cúm người. Sự cải tiến này rất quan trọng vì nó làm cho các tế bào MDCK-SIAT1 trở nên tương tự hơn với biểu mô đường hô hấp của người, vốn có nồng độ cao các thụ thể này. Do đó, các tế bào này cung cấp một mô hình sinh lý học phù hợp hơn để nghiên cứu virus cúm người và tương tác của chúng với các hợp chất kháng virus tiềm năng.

Một trong những ứng dụng quan trọng của tế bào MDCK-SIAT1 là đánh giá độ nhạy cảm của virus cúm đối với các chất ức chế neuraminidase (NAIs), như oseltamivir. Do sự gia tăng nồng độ axit sialic liên kết alpha-2,6, tế bào MDCK-SIAT1 thể hiện độ nhạy cảm cao hơn với NAIs so với tế bào MDCK chưa được sửa đổi. Điều này khiến chúng trở thành công cụ tuyệt vời để phát hiện kháng thuốc đối với các chất ức chế này, đặc biệt là trong các chủng virus cúm người có số lần truyền thấp. Dòng tế bào MDCK-SIAT1 cho phép thực hiện các nghiên cứu in vitro chính xác hơn về hiệu quả thuốc và tương tác thụ thể virus, cung cấp những hiểu biết quý giá về phát triển liệu pháp kháng virus và cơ chế kháng thuốc.

**Organism** Chó**Tissue** Thận**Đặc điểm****Breed/Subspecies** Chó Cocker Spaniel**Age** Người lớn**Gender** Nữ**Morphology** Thương bì**Growth properties** Người tuân thủ**Dữ liệu quy định****Citation** MDCK-SIAT1 (Số catalog Cytion 602281)**Biosafety level** 2

**Tế bào MDCK-SIAT1 | 602281****NCBI\_TaxID** 9615**CellosaurusAccession** CVCL\_Z936**GMO Status** GMO-S1: Dòng tế bào thận biểu mô chó (MDCK-SIAT1) này chứa cấu trúc pcDNA3.1GS mã hóa enzym 2,6-sialyltransferase của người (SIAT1), cho phép biểu hiện các mẫu sialylation tương tự như của người. Phần chèn được duy trì ổn định trong tế bào MDCK. Phân loại này chỉ áp dụng trong phạm vi Đức và có thể khác nhau ở các khu vực khác.**Dữ liệu sinh học phân tử****Protein expression** Được chuyển gen với ST6 beta-galactoside alpha-2,6-sialyltransferase 1 (ST6GAL1, SIAT1)**Xử lý****Culture Medium** DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)**Supplements** Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 10% huyết thanh bò (FBS) và 1 mg/ml G418**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** từ 21 đến 31 giờ**Subculturing** Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.**Seeding density** 2 đến  $4 \times 10^4$  tế bào/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 đến 3 lần mỗi tuần**Freeze medium** Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

## Tế bào MDCK-SIAT1 | 602281

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới  $-150^{\circ}\text{C}$  để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước  $37^{\circ}\text{C}$  với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở  $300 \times g$  trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , môi trường ẩm.

**Flask Coating**

Để đạt được độ bám dính và khả năng sống sót tối ưu sau khi rã đông, chúng tôi khuyến nghị sử dụng **các ống nghiệm hoặc đĩa được phủ collagen**.

**Freezing  
Procedure**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng  $-78^{\circ}\text{C}$  trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

## Tế bào MDCK-SIAT1 | 602281

### Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng  $-78^{\circ}\text{C}$  trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

### Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng  $-150$  đến  $-196^{\circ}\text{C}$ . Việc bảo quản ở  $-80^{\circ}\text{C}$  chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

## Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

### Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.