

Клетки АКАТА | 305510

Обща информация

Description

Клетъчната линия АКАТА, получена от лимфом на Burkitt, е широко използван модел за изследване на латентността и реактивирането на вируса на Epstein-Barr (EBV). EBV е повсеместно разпространен херпесвирус, свързан с редица видове рак, включително лимфом на Burkitt, и обикновено установява латентна инфекция в В-клетките. В клетките АКАТА EBV се поддържа в епизомално състояние с програма за латентност тип I, като експресира ограничен набор от вирусни гени, като EBNA-1, EBER РНК и BamHI-A десни транскрипти (BART). Тази ограничена генна експресия позволява на вируса да се запази в гостоприемника, без да започне пълен литичен цикъл. Въпреки това клетките АКАТА могат да бъдат задействани да навлязат в литична фаза, при която вирусът се репликира активно и произвежда потомство. Тази реактивация обикновено се предизвиква чрез омрежване на повърхностни имуноглобулини, което прави АКАТА клетките отличен инструмент за изучаване на динамиката на реактивацията на EBV и регулацията на вирусните гени.

Изследванията, в които се използва клетъчната линия АКАТА, разглеждат и въздействието на химиотерапевтичните агенти върху реактивирането на EBV. Например доказано е, че лекарства като етопозид и доксорубин влияят на вирусната латентност. Етопозидът предизвиква апоптоза в клетките АКАТА, но реактивира EBV по-слабо от доксорубин, който насърчава по-високи нива на експресия на литични гени и производство на вирусни потомства. Освен това проучвания, включващи техники за редактиране на гени, като CRISPR/Cas9, изследват ролята на епигенетичните регулатори в АКАТА клетките. Например, нокаутирането на хистон метилтрансферазата EZH2 в АКАТА клетките нарушава поддържането на латентност чрез намаляване на триметилацията на хистона H3K27, което води до повишена експресия на латентни и литични EBV гени, както и до засилена вирусна репликация и клетъчна пролиферация.

Клетките АКАТА също така показват различни фенотипни характеристики, основани на наличието на EBV, като повишена чувствителност към агенти, индуциращи апоптоза, и вариации в генната експресия, свързана с апоптотичните пътища. Тези разлики правят EBV-позитивните АКАТА клетки мощен модел за изследване на влиянието на EBV върху оцеляването на клетките-гостоприемници, генната експресия и жизнения цикъл на вируса, особено в контекста на развитието на рака и потенциалните терапевтични интервенции, насочени към злокачествени заболявания, свързани с EBV.

Organism Човек

Tissue Кръв

Disease Лимфом на Буркит

Synonyms Akata, Akata-BL, Akata BL, Akata-EC, Akata-Early Culture

Характеристики

Age 4 години

Gender Жена

Клетки АКАТА | 305510

Ethnicity	Японски
Morphology	Лимфобласт
Cell type	Клетка В
Growth properties	Окачване

Регулаторни данни

Citation	АКАТА (каталожен номер на Cytion 305510)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0148

Биомолекулярни данни

Viruses	Трансформатор: EBV
----------------	--------------------

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Subculturing	Съберете суспендираните клетки в 15-милилитрова епруветка и внимателно промийте прилепналите клетки с PBS без калций и магнезий (използвайте 3-5 ml за колби T25 и 5-10 ml за колби T75). Нанесете Accutase (1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75), като се уверите, че покрива изцяло клетъчния слой. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 10 минути. След инкубацията комбинирайте и центрофугирайте суспензията и адхезивните клетки. След центрофугирането внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета и прехвърлете клетъчната суспензия в нови колби, съдържащи свежа среда.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки АКАТА | 305510

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки АКАТА | 305510

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.