

Клетки DAKIKI | 305928

Обща информация

Description

DAKIKI е човешка В-лимфобластоидна клетъчна линия, положителна за вируса на Епщайн-Бар (EBV), която експресира повърхностен IgA1 и секретира полимерен IgA1. Тя е получена първоначално от периферни лимфоцити на възрастен пациент с назофарингеален карцином и впоследствие е установена като непрекъснато пролиферираща суспензионна култура. Клетките проявяват типична лимфобластоидна морфология и растат в RPMI-базирани среди, допълнени със серум. DAKIKI се използва широко като модел на човешки В-клетки, продуциращи IgA1, особено за изследвания, проучващи синтеза на имуноглобулин, регулацията на секрецията и посттранслационната гликозилиране.

Биохимични и лектинови анализи са показали, че IgA1, секретиран от DAKIKI клетки, проявява O-свързани гликани с дефицит на галактоза в шарнирната област. Анализът на състава на монозахаридите и ELISA с лектини потвърждават обогатяването на терминални или α 2,6-сиалирани N-ацетилгалактозамин (GalNAc) остатъци, гликоформа, характерна за аномално гликозилирания IgA1, наблюдаван при IgA нефропатия. Лечението с неураминидаза значително увеличава реактивността на аглутинина на *Helix aspersa*, което показва наличието на сиалирани GalNAc структури. Функционални тестове, използващи фракции, обогатени с Голджи, от DAKIKI клетки, демонстрират CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1 α 2,6-сиалилтрансферазна активност, потвърждавайки способността на тези клетки да сиалират директно O-гликани с дефицит на галактоза. Транскрипционните анализи разкриват експресия на ST6-GalNAcII, но не и на ST6-GalNAcI, което подкрепя ролята на ST6-GalNAcII в медирането на α 2,6-сиалилирането на GalNAc в шарнирната област на IgA1.

В допълнение към полезността си в изследванията на гликозилирането, DAKIKI е оценен за реактивност към фактори, индуциращи В-клетки, и форбол естери, които могат да модулират секрецията на имуноглобулин в определени човешки В-клетъчни линии. Въпреки че DAKIKI конститутивно секретира IgA, той е включен сред моделите на трансформирани с ЕБВ В-клетки, използвани за изучаване на регулацията на производството на имуноглобулин и състоянията на диференциация. Благодарение на стабилния си профил на секреция на IgA1 и възпроизводимото производство на гликани с дефицит на галактоза, α 2,6-сиалирани в шарнирната област, DAKIKI представлява добре характеризирана *in vitro* система за изследване на механизмите на гликозилиране на IgA1, диференциацията на В-клетките и молекулярната патогенеза на заболявания, свързани с IgA.

Organism

Човек

Tissue

Периферна кръв

Synonyms

ДАКИКИ, ДАКИКИ Клонинг 1

Характеристики

Age

Неуточнено

Gender

Неуточнено

Клетки DAKIKI | 305928

Ethnicity	Африкански
Morphology	лимфобласт
Cell type	В-клетка
Growth properties	Окачване

Регулаторни данни

Citation	DAKIKI (каталожен номер на Cytion 305928)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3675

Биомолекулярни данни

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
Dissociation Reagent	Няма
Subculturing	Нежно хомогенизирайте клетъчната суспензия в колбата, като я пипетирате нагоре и надолу, след което вземете представителна проба, за да определите клетъчната плътност на мл. Разрежете суспензията, за да постигнете клетъчна концентрация от 1×10^5 клетки/мл с прясна културална среда, и разпределете коригираната суспензия в нови колби за по-нататъшно култивиране.
Seeding density	$2 \text{ до } 5 \times 10^5 \text{ клетки/cm}^2$
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично

Клетки DAKIKI | 305928

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна хранителна среда + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване.

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°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°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 200 x g в продължение на 5 минути, внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща средата за замразяване.
7. Следвайте процедурата, описана в раздел "Възстановяване след размразяване"

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

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.

Клетки DAKIKI | 305928

Контрол на качеството и молекулярен анализ