Product sheet

Buňky AKATA | 305510

Obecné informace

Description	Buněčná linie AKATA, odvozená od Burkittova lymfomu, je široce používaným modelem pro studium latence a reaktivace viru Epsteina-Barrové (EBV). EBV je všudypřítomný herpesvirus spojený s řadou nádorových onemocnění, včetně Burkittova lymfomu, a obvykle se v B buňkách vytváří latentní infekce. V buňkách AKATA je EBV udržován v epizomálním stavu s programem latence typu I, který exprimuje omezenou sadu virových genů, jako jsou EBNA-1, EBER RNA a pravostranné transkripty BamHI-A (BART). Tato omezená exprese genů umožňuje viru přetrvávat v hostiteli, aniž by zahájil plný lytický cyklus. Buňky AKATA však mohou být spuštěny ke vstupu do lytické fáze, kdy se virus aktivně replikuje a produkuje potomstvo. Tato reaktivace je běžně vyvolána zkřížením povrchových imunoglobulinů, což z buněk AKATA činí vynikající nástroj pro studium dynamiky reaktivace EBV a regulace virových genů. Výzkum využívající buněčnou linii AKATA také zkoumal vliv chemoterapeutických látek na reaktivaci EBV. Bylo například prokázáno, že léky jako etoposid a doxorubicin ovlivňují virovou latenci. Etoposid vyvolává v buňkách AKATA apoptózu, ale reaktivuje EBV méně účinně než doxorubicin, který podporuje vyšší úroveň exprese lytických genů a produkci virového potomstva. Studie využívající techniky editace genů, jako je CRISPR/Cas9, navíc zkoumaly úlohu epigenetických regulátorů v buňkách AKATA. Například vyřazení histonové metyltransferázy EZH2 v buňkách AKATA narušuje udržování latence snížením trimetylace histonu H3K27, což vede ke zvýšené expresi latentních i lytických genů EBV a také ke zvýšené replikaci viru a proliferaci buněk. Buňky AKATA také vykazují odlišné fenotypové charakteristiky založené na přítomnosti EBV, jako je zvýšená citlivost na látky indukující apoptózu a změny v expresi genů souvisejících s apoptotickými cestami. Tyto rozdíly činí z EBV pozitivních buněk AKATA účinný model pro zkoumání vlivu EBV na přežívání hostitelských buněk, genovou expresi a životní cyklus viru, zejména v kontextu vývoje rakoviny a potenciálních terapeutických zásahů zaměřených na malignity spojené s EBV.
Organism	Člověk
Tissue	Krev
Disease	Burkittův lymfom
Synonyms	Akata, Akata-BL, Akata BL, Akata-EC, Akata-Early Culture

Charakteristika

Age	4 roky
Gender	Ženy
Ethnicity	Japonský
Morphology	Lymfoblasty

Buňky AKATA | 305510

Cell type	B buňka
Growth properties	Zavěšení

Regulační údaje

Citation	AKATA (katalogové číslo Cytion 305510)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0148

Biomolekulární data

Viruses	Transformant: EBV

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Subculturing	Shromážděte suspenzi buněk do 15 ml zkumavky a jemně promyjte adherentní buňky PBS bez vápníku a hořčíku (použijte 3-5 ml pro baňky T25 a 5-10 ml pro baňky T75). Aplikujte Accutase (1-2 ml pro baňky T25, 2,5 ml pro baňky T75), abyste zajistili úplné pokrytí buněčné vrstvy. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 10 minut. Po inkubaci spojte a odstřeďte suspenzi i adherované buňky. Po odstředění opatrně resuspendujte buněčnou peletu a přeneste buněčnou suspenzi do nových baněk obsahujících čerstvé médium.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky AKATA | 305510

Thawing and Culturing Cells	1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty. 2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace. 3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec. 4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem. 5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte. 6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte. 7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk. 8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.