

DAKIKI buňky | 305928

Obecné informace

Description

DAKIKI je lidská B-lymfoblastoidní buněčná linie pozitivní na Epstein-Barrův virus (EBV), která exprimuje povrchové IgA1 a vylučuje polymerní IgA1. Byla původně odvozena z periferních lymfocytů dospělého pacienta s karcinomem nosohltanu a následně zavedena jako nepřetržitě se množící suspenzní kultura. Buňky vykazují typickou lymfoblastoidní morfologii a rostou v médiích na bázi RPMI doplněných sérem. DAKIKI se široce používá jako model lidských B buněk produkujících IgA1, zejména pro studie zabývající se syntézou imunoglobulinů, regulací sekrece a posttranslační glykosylací.

Biochemické a lektinové analýzy prokázaly, že IgA1 sekretované buňkami DAKIKI vykazuje O-vázané glykany s deficitem galaktózy v oblasti kloubu. Analýza složení monosacharidů a lektinový ELISA potvrzují obohacení o terminální nebo α 2,6-sialylované N-acetylgalaktosaminové (GalNAc) zbytky, což je glykoforma charakteristická pro abnormálně glykosylovaný IgA1 pozorovaný u IgA nefropatie. Ošetření neuraminidázou výrazně zvyšuje reaktivitu aglutininu Helix aspersa, což naznačuje přítomnost sialylovaných struktur GalNAc. Funkční testy využívající frakce obohacené o Golgiho aparát z buněk DAKIKI prokazují aktivitu CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1 α 2,6-sialyltransferázy, což potvrzuje schopnost těchto buněk přímo sialylovat O-glykany s deficitem Gal. Transkripční analýzy odhalují expresi ST6-GalNAcII, ale nikoli ST6-GalNAcI, což podporuje roli ST6-GalNAcII při zprostředkování α 2,6-sialylace GalNAc v kloubové oblasti IgA1.

Kromě svého využití ve výzkumu glykosylace byl DAKIKI hodnocen z hlediska citlivosti na faktory indukující B-buňky a forbolestery, které mohou modulovat sekreci imunoglobulinů v určitých lidských B-buněčných liniích. Ačkoli DAKIKI konstitutivně sekretuje IgA, byl zařazen mezi modely B-buněk transformovaných EBV používané ke studiu regulace produkce imunoglobulinů a stavů diferenciací. Díky stabilnímu profilu sekrece IgA1 a reprodukovatelné produkci glykanů v kloubové oblasti s deficitem galaktózy a α 2,6-sialylací představuje DAKIKI dobře charakterizovaný in vitro systém pro zkoumání mechanismů glykosylace IgA1, diferenciací B-buněk a molekulární patogeneze poruch spojených s IgA.

Organism

Člověk

Tissue

Periferní krev

Synonyms

DAKIKI, DAKIKI Klon 1

Charakteristika

Age

Nespecifikováno

Gender

Nespecifikováno

Ethnicity

Africké

Morphology

lymfoblast

Cell type

B-buňka

DAKIKI buňky | 305928

Growth
properties

Zavěšení

Regulační údaje

Citation DAKIKI (katalogové číslo Cytion 305928)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3675

Biomolekulární data

Zpracování

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Žádný**Subculturing** Jemně homogenizujte buněčnou suspenzi v baňce pipetováním nahoru a dolů, poté odeberte reprezentativní vzorek pro stanovení buněčné hustoty na ml. Suspenzi zředte čerstvým kultivačním médiem tak, aby koncentrace buněk byla 1×10^5 buněk/ml, a upravenou suspenzi rozdělte do nových baňek pro další kultivaci.**Seeding density** $2 \text{ až } 5 \times 10^5$ buněk/cm²**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium + 10% DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení.

DAKIKI buňky | 305928

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení buď okamžitě uložte kryovialku 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 odstředíte při 200 x g po dobu 5 minut, supernatant obsahující mrazicí médium opatrně zlikvidujte.
7. Postupujte podle postupu popsaneho v části Obnova po rozmrazení

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiwa, 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