

AKATA-celler | 305510

Generel information

Description

AKATA-cellelinjen, der stammer fra Burkitts lymfom, er en meget anvendt model til at studere Epstein-Barr-virus (EBV) latens og reaktivering. EBV er et allestedsnærværende herpesvirus, der er forbundet med en række kræftformer, herunder Burkitt-lymfom, og som typisk etablerer en latent infektion i B-celler. I AKATA-celler opretholdes EBV i en episomal tilstand med et type I-latensprogram, der udtrykker et begrænset sæt virale gener såsom EBNA-1, EBER RNA'er og BamHI-A rightward transcripts (BART'er). Dette begrænsede genudtryk gør det muligt for virusset at forblive i værten uden at starte en fuld lytisk cyklus. AKATA-celler kan dog udløses til at gå ind i den lytiske fase, hvor virussen aktivt replikerer og producerer afkom. Denne reaktivering induceres almindeligvis gennem krydsbinding af overfladeimmunoglobuliner, hvilket gør AKATA-celler til et fremragende værktøj til at studere EBV-reaktiveringsdynamik og viral genregulering.

Forskning med AKATA-cellelinjen har også undersøgt effekten af kemoterapeutiske midler på EBV-reaktivering. For eksempel har stoffer som etoposid og doxorubicin vist sig at påvirke den virale latenstid. Etoposid fremkalder apoptose i AKATA-celler, men reaktiverer EBV mindre effektivt end doxorubicin, som fremmer højere niveauer af lytisk genekspression og produktion af viralt afkom. Derudover har studier, der involverer genredigeringsteknikker som CRISPR/Cas9, udforsket epigenetiske regulatorers rolle i AKATA-celler. For eksempel forstyrrer knockout af histonmethyltransferasen EZH2 i AKATA-celler opretholdelsen af latens ved at reducere trimethyleringen af histon H3K27, hvilket fører til øget ekspression af både latente og lytiske EBV-gener samt forbedret viral replikation og celleproliferation.

AKATA-celler udviser også forskellige fænotypiske egenskaber baseret på EBV-tilstedeværelse, såsom øget følsomhed over for apoptose-inducerende midler og variationer i genekspression relateret til apoptotiske veje. Disse forskelle gør EBV-positive AKATA-celler til en stærk model for dissekering af EBV's indflydelse på værtscellens overlevelse, genekspression og virussens livscyklus, især i forbindelse med kræftudvikling og potentielle terapeutiske indgreb rettet mod EBV-associerede maligniteter.

Organism Menneske

Tissue Blod

Disease Burkitt-lymfom

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

Karakteristika

Age 4 år

Gender Kvinde

Ethnicity Japansk

Morphology Lymfoblast

AKATA-celler | 305510

Cell type B-celle**Growth properties** Ophængning**Regulatoriske data****Citation** AKATA (Cytion katalognummer 305510)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0148**Biomolekylære data****Viruses** Transformant: EBV**Håndtering****Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Subculturing** Saml de suspenderede celler i et 15 ml rør, og vask forsigtigt de klæbende celler med PBS uden calcium og magnesium (brug 3-5 ml til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber). Påfør Accutase (1-2 ml til T25-kolber, 2,5 ml til T75-kolber) for at sikre fuld dækning af cellelaget. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 10 minutter. Efter inkubationen kombineres og centrifugeres både suspensionen og de vedhæftede celler. Efter centrifugering resuspenderes cellepelleten forsigtigt, og cellesuspensionen overføres til nye kolber, der indeholder frisk medium.**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

AKATA-celler | 305510

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

**Freezing
Procedure**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

**Shipping
Conditions**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

AKATA-celler | 305510

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.