

DAKIKI-celler | 305928

Generel information

Description

DAKIKI er en human Epstein-Barr-virus (EBV)-positiv B-lymfoblastoidcellelinje, der udtrykker overflade-IgA1 og udskiller polymert IgA1. Den stammer oprindeligt fra perifere lymfocytter fra en voksen patient med nasopharyngeal karcinom og blev efterfølgende etableret som en kontinuerligt prolifererende suspensionskultur. Cellerne udviser typisk lymfoblastoid morfologi og vokser i RPMI-baserede medier tilsat serum. DAKIKI er blevet udbredt anvendt som en model for humane IgA1-producerende B-celler, især til undersøgelser af immunoglobulinsyntese, regulering af sekretion og posttranslationel glykosylering.

Biokemiske og lektinbaserede analyser har vist, at IgA1 udskilt af DAKIKI-celler udviser galactose-mangelfulde O-forbundne glykaner inden for hængselregionen. Analyse af monosaccharidsammensætning og lektin-ELISA bekræfter berigelse af terminale eller α 2,6-sialylerede N-acetylgalactosamin (GalNAc)-rester, en glykoform, der er karakteristisk for unormalt glykosyleret IgA1 observeret ved IgA-nefropati. Behandling med neuraminidase øger markant Helix aspersa-agglutininreaktiviteten, hvilket indikerer tilstedeværelsen af sialylerede GalNAc-strukturer. Funktionelle assays ved hjælp af Golgi-berigede fraktioner fra DAKIKI-celler påviser CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1 α 2,6-sialyltransferaseaktivitet, hvilket bekræfter disse cellers evne til direkte at sialylere Gal-defekte O-glykaner. Transkriptionsanalyser afslører ekspresion af ST6-GalNAcII, men ikke ST6-GalNAcI, hvilket understøtter ST6-GalNAcII's rolle i formidlingen af α 2,6-sialylering af GalNAc i hængselregionen i IgA1.

Ud over sin anvendelighed i glykosyleringsforskning er DAKIKI blevet evalueret for reaktivitet over for B-celle-inducerende faktorer og phorbolestere, som kan modulere immunoglobulinsekretionen i visse humane B-cellelinjer. Selvom DAKIKI konstant udskiller IgA, er den blevet inkluderet blandt EBV-transformerede B-cellemodeller, der anvendes til at studere regulering af immunoglobulinproduktion og differentieringstilstande. På grund af dets stabile IgA1-sekretionsprofil og reproducerbare produktion af galactose-defekte, α 2,6-sialylerede glykaner i hængselregionen repræsenterer DAKIKI et velkarakteriseret in vitro-system til undersøgelse af mekanismerne bag IgA1-glykosylering, B-celle-differentiering og den molekylære patogenese af IgA-associerede lidelser.

Organism

Menneske

Tissue

Perifert blod

Synonyms

DAKIKI, DAKIKI-klon 1

Karakteristika

Age

Uspecificeret

Gender

Uspecificeret

Ethnicity

Afrikansk

Morphology

lymfoblast

DAKIKI-celler | 305928

Cell type B-celle**Growth properties** Ophængning

Regulatoriske data

Citation DAKIKI (Cytion-katalognummer 305928)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3675

Biomolekylære data

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**Dissociation Reagent** Ingen**Subculturing** Homogeniser forsigtigt celsuspensionen i kolben ved at pipettere op og ned, og tag derefter en repræsentativ prøve for at bestemme celletætheden pr. ml. Fortynd suspensionen til en cellekoncentration på 1×10^5 celler/ml med frisk dyrkningsmedium, og fordel den justerede suspension i nye kolber til videre dyrkning.**Seeding density** 2 til 5×10^5 cell^{er}/cm²**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium + 10 % DMSO for at opnå tilstrækkelig levedygtighed efter optøning.

DAKIKI-celler | 305928

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tør is for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelse skal du enten opbevare kryohætteglasset med det samme ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller fortsætte til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der 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 200 x g i 5 minutter, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder frysemedium.
7. Følg proceduren beskrevet under Post-Thaw Recovery

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

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 og molekylær analyse