Product sheet

AKATA-Zellen | 305510

Allgemeine Informationen

Description	Die AKATA-Zelllinie, die vom Burkitt-Lymphom abstammt, ist ein weit verbreitetes Modell zur Untersuchung der Latenz und Reaktivierung des Epstein-Barr-Virus (EBV). EBV ist ein ubiquitäres Herpesvirus, das mit einer Reihe von Krebsarten, darunter auch dem Burkitt-Lymphom, in Verbindung gebracht wird und in der Regel eine latente Infektion in B-Zellen hervorruft. In AKATA-Zellen wird EBV in einem episomalen Zustand mit einem Latenzprogramm vom Typ I aufrechterhalten und exprimiert eine begrenzte Anzahl von viralen Genen wie EBNA-1, EBER-RNAs und BamHI-A rightward transcripts (BARTs). Diese eingeschränkte Genexpression ermöglicht es dem Virus, im Wirt zu überleben, ohne einen vollständigen lytischen Zyklus einzuleiten. AKATA-Zellen können jedoch dazu gebracht werden, in die lytische Phase einzutreten, in der sich das Virus aktiv vermehrt und Nachkommen produziert. Diese Reaktivierung wird in der Regel durch die Vernetzung von Oberflächen-Immunglobulinen ausgelöst, was AKATA-Zellen zu einem hervorragenden Instrument für die Untersuchung der EBV-Reaktivierungsdynamik und der viralen Genregulation macht. Im Rahmen von Forschungsarbeiten mit der AKATA-Zelllinie wurden auch die Auswirkungen von Chemotherapeutika auf die EBV-Reaktivierung untersucht. So wurde beispielsweise gezeigt, dass Medikamente wie Etoposid und Doxorubicin die virale Latenz beeinflussen. Etoposid induziert die Apoptose in AKATA-Zellen, reaktiviert EBV aber weniger effektiv als Doxorubicin, das eine höhere lytische Genexpression und virale Nachkommenschaft fördert. Darüber hinaus haben Studien mit Gen-Editing-Techniken wie CRISPR/Cas9 die Rolle epigenetischer Regulatoren in AKATA-Zellen untersucht. So wird beispielsweise durch Knockout der Histon-Methyltransferase EZH2 in AKATA-Zellen die Aufrechterhaltung der Latenz gestört, indem die Trimethylierung von Histon H3K27 reduziert wird, was zu einer verstärkten Expression sowohl latenter als auch lytischer EBV-Gene sowie zu einer verstärkten viralen Replikation und Zellproliferation führt. AKATA-Zellen weisen auch unterschiedliche phänotypische Merkmale auf, die auf dem Vorhandensein von EBV beruhen, wie z. B. eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Apoptose-induzierenden Substanzen und Variationen in der Genexpression im Zusammenhang mit apoptotischen Signalwegen. Diese Unterschiede machen EBV-positive AKATA-Zellen zu einem leistungsfähigen Modell für die Untersuchung des Einflusses von EBV auf das Überleben der Wirtszellen, die Genexpression und den Lebenszyklus des Virus, insbesondere im Zusammenhang mit der Krebsentwicklung und potenziellen therapeutischen Interventionen, die auf EBV-assoziierte Malignome abzielen.
Organism	Menschen
Tissue	Blut
Disease	Burkitt-Lymphom
Synonyms	Akata, Akata-BL, Akata BL, Akata-EC, Akata-Frühkultur

Merkmale

Age	4 Jahre
Gender	Weiblich

AKATA-Zellen | 305510

Ethnicity	Japanisch
Morphology	Lymphoblasten
Cell type	B-Zelle
Growth properties	Aufhängung

Regulatorische Daten

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

Biomolekulare Daten

Viruses	Transformant: EBV

Handhabung

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion-Artikelnummer 820700a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
Subculturing	Die Suspensionszellen in einem 15-ml-Röhrchen sammeln und die anhaftenden Zellen vorsichtig mit PBS ohne Kalzium und Magnesium waschen (3-5 ml für T25-Kolben und 5-10 ml für T75-Kolben verwenden). Accutase auftragen (1-2 ml für T25-Kolben, 2,5 ml für T75-Kolben), um sicherzustellen, dass die Zellschicht vollständig bedeckt ist. Die Zellen 10 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren lassen. Nach der Inkubation sowohl die Suspension als auch die adhärenten Zellen mischen und zentrifugieren. Nach der Zentrifugation das Zellpellet vorsichtig resuspendieren und die Zellsuspension in neue Flaschen mit frischem Medium überführen.
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

AKATA-Zellen | 305510

Thawing and Culturing Cells	1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten. 2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist. 3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt. 4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol. 5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen. 6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig. 7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern. 8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.
Flask Coating	Keine
Freezing Procedure	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility	Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.