

DAKIKI-Zellen | 305928

Allgemeine Informationen

Description

DAKIKI ist eine humane, Epstein-Barr-Virus (EBV)-positive B-Lymphoblastoid-Zelllinie, die Oberflächen-IgA1 exprimiert und polymeres IgA1 sezerniert. Sie wurde ursprünglich aus peripheren Lymphozyten eines erwachsenen Patienten mit Nasopharynxkarzinom gewonnen und anschließend als kontinuierlich proliferierende Suspensionskultur etabliert. Die Zellen weisen eine typische lymphoblastische Morphologie auf und wachsen in RPMI-basierten Medien, die mit Serum ergänzt sind. DAKIKI wird häufig als Modell für humane IgA1-produzierende B-Zellen verwendet, insbesondere für Untersuchungen zur Immunglobulinsynthese, zur Regulation der Sekretion und zur posttranslationalen Glykosylierung.

Biochemische und lektinbasierte Analysen haben gezeigt, dass das von DAKIKI-Zellen sekretierte IgA1 galaktose-defiziente O-verknüpfte Glykane im Gelenkbereich aufweist. Die Analyse der Monosaccharidzusammensetzung und der Lektin-ELISA bestätigen eine Anreicherung von terminalen oder α 2,6-sialylierten N-Acetylgalactosamin (GalNAc)-Resten, einer Glykoform, die für abnormal glykosyliertes IgA1 charakteristisch ist, wie es bei der IgA-Nephropathie beobachtet wird. Die Behandlung mit Neuraminidase erhöht die Reaktivität gegenüber Helix aspersa-Agglutinin deutlich, was auf das Vorhandensein sialylierter GalNAc-Strukturen hindeutet. Funktionelle Assays unter Verwendung von Golgi-angereicherten Fraktionen aus DAKIKI-Zellen zeigen eine CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1- α 2,6-Sialyltransferase-Aktivität, was die Fähigkeit dieser Zellen bestätigt, Gal-defiziente O-Glykane direkt zu sialylieren. Transkriptionsanalysen zeigen die Expression von ST6-GalNAcII, jedoch nicht von ST6-GalNAcI, was die Rolle von ST6-GalNAcII bei der Vermittlung der α 2,6-Sialylierung von GalNAc in der Gelenkregion von IgA1 untermauert.

Zusätzlich zu seiner Nützlichkeit in der Glykosylierungsforschung wurde DAKIKI auf seine Reaktionsfähigkeit gegenüber B-Zell-induzierenden Faktoren und Phorbolestern untersucht, die die Immunglobulinsekretion in bestimmten humanen B-Zell-Linien modulieren können. Da DAKIKI konstitutiv IgA sekretiert, wurde es in die Gruppe der EBV-transformierten B-Zell-Modelle aufgenommen, die zur Untersuchung der Regulation der Immunglobulinproduktion und der Differenzierungsstadien verwendet werden. Aufgrund seines stabilen IgA1-Sekretionsprofils und der reproduzierbaren Produktion von Galaktose-defizienten, α 2,6-sialylierten Glykanen in der Hinge-Region stellt DAKIKI ein gut charakterisiertes In-vitro-System zur Untersuchung der Mechanismen der IgA1-Glykosylierung, der B-Zell-Differenzierung und der molekularen Pathogenese von IgA-assoziierten Erkrankungen dar.

Organism

Menschen

Tissue

Peripheres Blut

Synonyms

DAKIKI, DAKIKI-Klon 1

Merkmale

Age

Nicht spezifiziert

Gender

Nicht spezifiziert

Ethnicity

Afrika

DAKIKI-Zellen | 305928

Morphology Lymphoblast**Cell type** B-Zelle**Growth properties** Aufhängung

Regulatorische Daten

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

Biomolekulare Daten

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**Dissociation Reagent** Keine**Subculturing** Homogenisieren Sie die Zellsuspension im Kolben vorsichtig durch Auf- und Abpipettieren und entnehmen Sie dann eine repräsentative Probe, um die Zelldichte pro ml zu bestimmen. Verdünnen Sie die Suspension mit frischem Kulturmedium auf eine Zellkonzentration von 1×10^5 Zellen/ml und füllen Sie die angepasste Suspension zur weiteren Kultivierung in neue Kolben.**Seeding density** 2 bis 5×10^5 Zellen/cm²**Fluid renewal** 2 bis 3 Mal pro Woche**Freeze medium** Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir vollständiges Wachstumsmedium + 10 % DMSO, um eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten.

DAKIKI-Zellen | 305928

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. Die Mischung 5 Minuten lang bei $200 \times g$ zentrifugieren und den Überstand mit dem Gefriermedium vorsichtig verwerfen.
7. Befolgen Sie das unter Wiederherstellung nach dem Auftauen beschriebene Verfahren

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

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