

Κύτταρα AKATA | 305510

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά AKATA, που προέρχεται από λέμφωμα Burkitt, είναι ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο μοντέλο για τη μελέτη της λανθάνουσας κατάστασης και της επανενεργοποίησης του ιού Epstein-Barr (EBV). Ο EBV είναι ένας πανταχού παρών ερπητοϊός που συνδέεται με μια σειρά καρκίνων, συμπεριλαμβανομένου του λεμφώματος Burkitt, και συνήθως εγκαθιστά μια λανθάνουσα μόλυνση εντός των B κυττάρων. Στα κύτταρα AKATA, ο EBV διατηρείται σε επεισοδιακή κατάσταση με ένα πρόγραμμα λανθάνουσας κατάστασης τύπου I, εκφράζοντας ένα περιορισμένο σύνολο ιικών γονιδίων όπως το EBNA-1, τα RNAs EBER και τα μεταγράμματα BamHI-A προς τα δεξιά (BARTs). Αυτή η περιορισμένη γονιδιακή έκφραση επιτρέπει στον ιό να επιμένει στον ξενιστή χωρίς να ξεκινά έναν πλήρη λυτικό κύκλο. Ωστόσο, τα κύτταρα AKATA μπορούν να ενεργοποιηθούν για να εισέλθουν στη λυτική φάση, όπου ο ιός αναπαράγεται ενεργά και παράγει απογόνους. Αυτή η επανενεργοποίηση προκαλείται συνήθως μέσω της διασταύρωσης επιφανειακών ανοσοσφαιρινών, γεγονός που καθιστά τα κύτταρα AKATA ένα εξαιρετικό εργαλείο για τη μελέτη της δυναμικής επανενεργοποίησης του EBV και της ιογενούς γονιδιακής ρύθμισης.

Η έρευνα που χρησιμοποιεί την κυτταρική σειρά AKATA έχει επίσης εξετάσει την επίδραση των χημειοθεραπευτικών παραγόντων στην επανενεργοποίηση του EBV. Για παράδειγμα, φάρμακα όπως η ετοποσιδίη και η δοξορουβικίνη έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζουν τον λανθάνοντα χρόνο του ιού. Η ετοποσιδίη επάγει απόπτωση στα κύτταρα AKATA αλλά επανενεργοποιεί τον EBV λιγότερο αποτελεσματικά από τη δοξορουβικίνη, η οποία προάγει υψηλότερα επίπεδα έκφρασης λυτικών γονιδίων και παραγωγής ιικών απογόνων. Επιπλέον, μελέτες που περιλαμβάνουν τεχνικές γονιδιακής επεξεργασίας, όπως το CRISPR/Cas9, έχουν διερευνήσει τον ρόλο των επιγενετικών ρυθμιστών στα κύτταρα AKATA. Για παράδειγμα, το knockout της μεθυλοτρανσφεράσης της ιστόνης EZH2 σε κύτταρα AKATA διαταράσσει τη διατήρηση του λανθάνοντος χαρακτήρα μειώνοντας την τριμεθυλίωση της ιστόνης H3K27, οδηγώντας σε αυξημένη έκφραση τόσο λανθανόντων όσο και λυτικών γονιδίων του EBV, καθώς και σε ενισχυμένο ιικό πολλαπλασιασμό και κυτταρικό πολλαπλασιασμό.

Τα κύτταρα AKATA εμφανίζουν επίσης διακριτά φαινοτυπικά χαρακτηριστικά με βάση την παρουσία του EBV, όπως αυξημένη ευαισθησία σε παράγοντες που προκαλούν απόπτωση και διαφοροποιήσεις στην έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με αποπτωτικά μονοπάτια. Αυτές οι διαφορές καθιστούν τα EBV-θετικά κύτταρα AKATA ένα ισχυρό μοντέλο για την ανάλυση της επιρροής του EBV στην επιβίωση των κυττάρων ξενιστών, την έκφραση των γονιδίων και τον κύκλο ζωής του ιού, ιδίως στο πλαίσιο της ανάπτυξης του καρκίνου και των πιθανών θεραπευτικών παρεμβάσεων που στοχεύουν στις κακοήθειες που σχετίζονται με τον EBV.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Αίμα

Disease

Λέμφωμα Burkitt

Synonyms

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

Χαρακτηριστικά

Age

4 χρόνια

Κύτταρα AKATA | 305510

Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Ιαπωνικά
Morphology	Λεμφοβλάστες
Cell type	Κύτταρο B
Growth properties	Αναστολή

Ρυθμιστικά δεδομένα

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

Βιομοριακά δεδομένα

Viruses	Μετασχηματιστής: EBV
----------------	----------------------

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
--------------------	--------------------------------

Subculturing	Συγκεντρώστε τα εναιωρήματα σε ένα σωληνάριο των 15 ml και πλύνετε απαλά τα προσκολλημένα κύτταρα με PBS χωρίς ασβέστιο και μαγνήσιο (χρησιμοποιήστε 3-5 ml για φιάλες T25 και 5-10 ml για φιάλες T75). Εφαρμόστε Accutase (1-2 ml για φιάλες T25, 2,5 ml για φιάλες T75) εξασφαλίζοντας πλήρη κάλυψη της κυτταρικής στιβάδας. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά. Μετά την επώαση, συνδυάστε και φυγοκεντρίστε τόσο το εναιώρημα όσο και τα προσκολλημένα κύτταρα. Μετά τη φυγοκέντρηση, ανασυγκεντρώστε προσεκτικά το κυτταρικό σφαιρίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα κυττάρων σε νέες φιάλες που περιέχουν φρέσκο μέσο.
---------------------	---

Κύτταρα AKATA | 305510**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Κύτταρα AKATA | 305510

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.