

Κύτταρα DAKIKI | 305928

Γενικές πληροφορίες

Description

Η DAKIKI είναι μια ανθρώπινη σειρά κυττάρων B-λεμφοβλαστοειδών θετικών στον ιό Epstein-Barr (EBV), η οποία εκφράζει επιφανειακή IgA1 και εκκρίνει πολυμερή IgA1. Προέρχεται αρχικά από περιφερικά λεμφοκύτταρα ενός ενήλικου ασθενούς με καρκίνωμα του ρινοφάρυγγα και στη συνέχεια καθιερώθηκε ως καλλιέργεια εν αιωρήματος με συνεχή πολλαπλασιασμό. Τα κύτταρα παρουσιάζουν τυπική λεμφοβλαστοειδή μορφολογία και αναπτύσσονται σε μέσο με βάση RPMI συμπληρωμένο με ορό. Το DAKIKI έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως ως μοντέλο ανθρώπινων B-κυττάρων που παράγουν IgA1, ιδιαίτερα για μελέτες που διερευνούν τη σύνθεση ανοσοσφαιρινών, τη ρύθμιση της έκκρισης και τη μετα-μεταφραστική γλυκοζυλίωση.

Βιοχημικές αναλύσεις και αναλύσεις με βάση λεκτίνες έχουν δείξει ότι η IgA1 που εκκρίνεται από τα κύτταρα DAKIKI εμφανίζει O-συνδεδεμένα γλυκάνες με έλλειψη γαλακτόζης εντός της περιοχής άρθρωσης. Η ανάλυση της σύνθεσης των μονοσακχαριτών και η ELISA με λεκτίνη επιβεβαιώνουν τον εμπλουτισμό των τερματικών ή α2,6-σιαλυλιωμένων υπολειμμάτων N-ακετυλογαλακτοζαμίνης (GalNAc), μιας γλυκομορφής χαρακτηριστικής της ανώμαλα γλυκοζυλιωμένης IgA1 που παρατηρείται στην IgA νεφροπάθεια. Η επεξεργασία με νευραμινιδάση αυξάνει σημαντικά την αντιδραστικότητα της αγγλουτινίνης *Helix aspersa*, υποδηλώνοντας την παρουσία σιαλυμένων δομών GalNAc. Λειτουργικές δοκιμασίες με τη χρήση κλασμάτων εμπλουτισμένων με Golgi από κύτταρα DAKIKI καταδεικνύουν δραστηριότητα CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1 α2,6-σιαλιλτρανσφεράσης, επιβεβαιώνοντας την ικανότητα αυτών των κυττάρων να σιαλιώνουν άμεσα O-γλυκάνες με έλλειψη γαλακτόζης. Οι μεταγραφικές αναλύσεις αποκαλύπτουν την έκφραση του ST6-GalNAcII αλλά όχι του ST6-GalNAcI, υποστηρίζοντας τον ρόλο του ST6-GalNAcII στη μεσολάβηση της α2,6 σιαλυλίωσης του GalNAc της περιοχής άρθρωσης στην IgA1.

Εκτός από τη χρησιμότητά του στην έρευνα γλυκοζυλίωσης, το DAKIKI έχει αξιολογηθεί ως προς την ανταπόκρισή του σε παράγοντες που επάγουν B-κύτταρα και σε φορβολικούς εστέρες, οι οποίοι μπορούν να ρυθμίσουν την έκκριση ανοσοσφαιρινών σε ορισμένες ανθρώπινες σειρές B-κυττάρων. Ενώ το DAKIKI εκκρίνει συστηματικά IgA, έχει συμπεριληφθεί στα μοντέλα B-κυττάρων που έχουν μετασχηματιστεί από τον ιό EBV και χρησιμοποιούνται για τη μελέτη της ρύθμισης της παραγωγής ανοσοσφαιρινών και των καταστάσεων διαφοροποίησης. Λόγω του σταθερού προφίλ έκκρισης IgA1 και της αναπαραγωγίμης παραγωγής γλυκανών της περιοχής άρθρωσης με έλλειψη γαλακτόζης και α2,6-σιαλυλιωμένων, το DAKIKI αντιπροσωπεύει ένα καλά χαρακτηρισμένο σύστημα *in vitro* για τη διερεύνηση των μηχανισμών γλυκοζυλίωσης της IgA1, της διαφοροποίησης των B-κυττάρων και της μοριακής παθογένειας των διαταραχών που σχετίζονται με την IgA.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Περιφερικό αίμα

Synonyms DAKIKI, DAKIKI Κλώνος 1

Χαρακτηριστικά

Age Απροσδιόριστο

Gender Απροσδιόριστο

Κύτταρα DAKIKI | 305928

Ethnicity	Αφρικανική
Morphology	λεμφοβλάστης
Cell type	Β-κύτταρο
Growth properties	Αναστολή

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	DAKIKI (αριθμός καταλόγου Cytion 305928)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3675

Βιομοριακά δεδομένα

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
Dissociation Reagent	Κανένα
Subculturing	Ομογενοποιήστε απαλά το κυτταρικό εναιώρημα στη φιάλη με πιπέτωση προς τα πάνω και προς τα κάτω και, στη συνέχεια, λάβετε ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα για να προσδιορίσετε την κυτταρική πυκνότητα ανά ml. Αραιώστε το εναιώρημα για να επιτύχετε συγκέντρωση κυττάρων 1×10^5 κύτταρα/ml με φρέσκο μέσο καλλιέργειας και μεταφέρετε το ρυθμισμένο εναιώρημα σε νέες φιάλες για περαιτέρω καλλιέργεια.
Seeding density	2 έως 5×10^5 κύτταρα/cm ²
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Κύτταρα DAKIKI | 305928**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη.

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. Φυγοκεντρήστε το μείγμα στα $200 \times g$ για 5 λεπτά, απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το μέσο κατάψυξης.
7. Ακολουθήστε τη διαδικασία που περιγράφεται στην ενότητα Ανάκτηση μετά την απόψυξη

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

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.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση