

Células DAKIKI | 305928

Información general

Description

DAKIKI es una línea celular linfoblastoide B humana positiva al virus de Epstein-Barr (VEB) que expresa IgA1 de superficie y secreta IgA1 polimérica. Se derivó originalmente de linfocitos periféricos de un paciente adulto con carcinoma nasofaríngeo y, posteriormente, se estableció como un cultivo en suspensión de proliferación continua. Las células presentan una morfología linfoblastoide típica y crecen en medios a base de RPMI suplementados con suero. DAKIKI se ha utilizado ampliamente como modelo de células B productoras de IgA1 humana, especialmente para estudios que investigan la síntesis de inmunoglobulinas, la regulación de la secreción y la glicosilación postraduccional.

Los análisis bioquímicos y basados en lectinas han demostrado que la IgA1 secretada por las células DAKIKI presenta glicanos O-ligados con deficiencia de galactosa en la región de la bisagra. El análisis de la composición de monosacáridos y el ELISA de lectinas confirman el enriquecimiento de residuos terminales o de N-acetilgalactosamina (GalNAc) α 2,6-sialilada, una glicofoma característica de la IgA1 con glicosilación anómala observada en la nefropatía por IgA. El tratamiento con neuraminidasa aumenta notablemente la reactividad de la aglutinina Helix aspersa, lo que indica la presencia de estructuras de GalNAc sialiladas. Los ensayos funcionales que utilizan fracciones enriquecidas en Golgi de células DAKIKI demuestran la actividad de la α 2,6-sialiltransferasa CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1, lo que confirma la capacidad de estas células para sialilar directamente los glicanos O-ligados con déficit de galactosa. Los análisis transcripcionales revelan la expresión de ST6-GalNAcII, pero no de ST6-GalNAcI, lo que respalda el papel de ST6-GalNAcII en la mediación de la sialilación α 2,6 del GalNAc de la región bisagra en la IgA1.

Además de su utilidad en la investigación sobre la glicosilación, se ha evaluado la capacidad de respuesta de DAKIKI a los factores inductores de células B y a los ésteres de forbol, que pueden modular la secreción de inmunoglobulinas en determinadas líneas celulares B humanas. Aunque DAKIKI secreta IgA de forma constitutiva, se ha incluido entre los modelos de células B transformadas por el VEB utilizados para estudiar la regulación de la producción de inmunoglobulinas y los estados de diferenciación. Gracias a su perfil de secreción estable de IgA1 y a la producción reproducible de glicanos de la región de bisagra α 2,6-sialilados y deficientes en galactosa, DAKIKI representa un sistema in vitro bien caracterizado para investigar los mecanismos de la glicosilación de la IgA1, la diferenciación de las células B y la patogénesis molecular de los trastornos asociados a la IgA.

Organism

Humano

Tissue

Sangre periférica

Synonyms

DAKIKI, Clon de DAKIKI 1

Características

Age

Sin especificar

Gender

Sin especificar

Ethnicity

Africano

Células DAKIKI | 305928

Morphology linfoblasto**Cell type** célula B**Growth properties** Suspensión

Datos reglamentarios

Citation DAKIKI (número de catálogo de Cytion 305928)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3675

Datos biomoleculares

Manejo de

Culture Medium RPMI 1640, con: 2,0 mM de glutamina estable, con: 2,0 g/L de NaHCO₃ (número de artículo de Cytion 820700a)**Supplements** Complementar el medio con un 10% de FBS**Dissociation Reagent** Ninguno**Subculturing** Homogeneice suavemente la suspensión celular en el matraz pipeteando hacia arriba y hacia abajo, y luego tome una muestra representativa para determinar la densidad celular por ml. Diluya la suspensión para alcanzar una concentración celular de 1×10^5 células/ml con medio de cultivo fresco, y divida la suspensión ajustada en nuevos matraces para su posterior cultivo.**Seeding density** De 2 a 5×10^5 células/cm²**Fluid renewal** de 2 a 3 veces por semana**Freeze medium** Como medio de criopreservación, utilizamos medio de crecimiento completo + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación.

Células DAKIKI | 305928

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a 200 x g durante 5 minutos, desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación.
7. Siga el procedimiento descrito en Recuperación post-descongelación

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular