

AKATA rakud | 305510

Üldine teave

Description

Burkitt'i lümfoomist saadud AKATA rakuliin on laialdaselt kasutatav mudel Epstein-Barri viiruse (EBV) latentsuse ja reaktiveerimise uurimiseks. EBV on üldlevinud herpesviirus, mis on seotud mitmete vähivormidega, sealhulgas Burkitt'i lümfoomiga, ja tavaliselt tekitab B-rakkudes latentse infektsiooni. AKATA rakkudes püsib EBV episomaalses olekus I tüüpi latentsusprogrammiga, ekspresseerides piiratud hulka viiruse geene, nagu EBNA-1, EBER RNAd ja BamHI-A paremale suunatud transkripte (BART). Selline piiratud geeniekspressioon võimaldab viirusel peremeesorganismis püsida ilma täielikku lüütilist tsükli algatamata. AKATA rakke saab siiski käivitada lüütilisse faasi, kus viirus aktiivselt replitseerub ja toodab järglast. See reaktiveerimine indutseeritakse tavaliselt pinnaimmunoglobuliinide ristsidumise kaudu, mis muudab AKATA rakud suurepäraseks vahendiks EBV reaktiveerimise dünaamika ja viiruse geenide regulatsiooni uurimiseks.

AKATA rakuliini kasutades on uuritud ka keemiaravimite mõju EBV reaktiveerimisele. Näiteks on näidatud, et sellised ravimid nagu etoposiid ja doksorubitsiin mõjutavad viiruse latentsust. Etoposiid kutsus AKATA rakkudes esile apoptoosi, kuid reaktiveerib EBV vähem tõhusalt kui doksorubitsiin, mis soodustab lüütilise geeni suuremat ekspressiooni ja viiruse järglaste tootmist. Lisaks on geenitöötlustehnikaid, nagu CRISPR/Cas9, hõlmavates uuringutes uuritud epigeneetiliste regulaatorite rolli AKATA rakkudes. Näiteks histoonmetüültransferaasi EZH2 välja lülitamine AKATA rakkudes häirib latentsuse säilitamist, vähendades histooni H3K27 trimetüleerimist, mis viib nii latentsete kui ka lüütiliste EBV geenide suurenenud ekspressiooni, samuti suurenenud viiruse replikatsiooni ja rakkude proliferatsiooni.

AKATA rakkudel on ka erinevad fenotüüpilised omadused, mis põhinevad EBV olemasolul, näiteks suurenenud tundlikkus apoptoosi indutseerivate ainete suhtes ja erinevused apoptootiliste radadega seotud geeniekspressioonis. Need erinevused muudavad EBV-positiivsed AKATA rakud võimsaks mudeliks, mille abil saab uurida EBV mõju peremeesraku ellujäämisele, geeniekspressioonile ja viiruse elutsükli, eriti vähi arengu ja võimalike EBV-ga seotud pahaloomuliste haiguste vastu suunatud terapeutiliste sekkumiste kontekstis.

Organism Inimene

Tissue Veri

Disease Burkitt'i lümfoom

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

Omadused

Age 4 aastat

Gender Naised

Ethnicity Jaapani

Morphology Lümfoblastid

AKATA rakud | 305510

Cell type B-raku**Growth properties** Peatamine**Regulatiivsed andmed****Citation** AKATA (Cytioni katalooginumber 305510)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0148**Biomolekulaarsed andmed****Viruses** Transformant: EBV**Töötlemine****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Subculturing** Koguge suspensioonirakud 15 ml tuubi ja peske kleepunud rakud ettevaatlikult PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium (kasutage 3-5 ml T25 kolbide puhul ja 5-10 ml T75 kolbide puhul). Kandke Accutase'i (1-2 ml T25 kolvidesse, 2,5 ml T75 kolvidesse), tagades rakukihhi täieliku katvuse. Laske rakkudel 10 minutit toatemperatuuril inkubeerida. Pärast inkubeerimist ühendage ja tsestrifuugige nii suspensioon kui ka adherentsed rakud. Pärast tsestrifuugimist resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult ja kandke rakususpensioon uutesse kolvidesse, mis sisaldavad värsket söötmeainet.**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

AKATA rakud | 305510

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

AKATA rakud | 305510

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.