Product sheet

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 geenieksпressioon võimaldab viirusel peremeesorganismis püsida ilma täielikku lüütilist tsüklit 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 kutsub 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 geenieksпressioonis. Need erinevused muudavad EBV-positiivsed AKATA rakud võimsaks mudeliks, mille abil saab uurida EBV mõju peremeesraku ellujäämisele, geenieksпressioonile ja viiruse elutsüklile, 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

Product sheet

AKATA rakud | 305510

Cell type	B-raku
Growth properties	Peatamine

Regulatiivsed andmed

Citation	AKATA (Cytioni kataloginumber 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 rakukihi täieliku katvuse. Laske rakkudel 10 minutit toatemperatuuril inkubeerida. Pärast inkubeerimist ühendage ja tsentrifuugige nii suspensioon kui ka adherentsed rakud. Pärast tsentrifuugimist 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 kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

AKATA rakud | 305510

Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °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 viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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°C, 5% $_{CO2}$, 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 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

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 ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.