

DAKIKI rakud | 305928

Üldine teave

Description

DAKIKI on inimese Epstein-Barr-viiruse (EBV) positiivne B-lümfoblastoidne rakuliin, mis ekspresseerib pinnal IgA1-i ja eritab polümeerset IgA1-i. See saadi algselt nina-neelu kartsinoomiga täiskasvanud patsiendi perifeersetest lümfotsüütidest ning seejärel loodi sellest pidevalt paljunev suspensioonikultuur. Rakud näitavad tüüpilist lümfoblastoidide morfoloogiat ja kasvavad seerumiga täiendatud RPMI-põhises keskkonnas. DAKIKI-t on laialdaselt kasutatud inimese IgA1-d tootvate B-rakkude mudelina, eriti uuringutes, mis uurivad immunoglobuliini sünteesi, sekretsiooni regulatsiooni ja posttranslatsioonilist glükosüleerimist.

Biokeemilised ja lektiinipõhised analüüsid on näidanud, et DAKIKI rakkude poolt sekreteeritud IgA1-l on hinge piirkonnas galaktoosivaegusega O-seotud glükaanid. Monosahhariidide koostise analüüs ja lektiini ELISA kinnitavad terminaalset või α 2,6-sialüleeritud N-atsetüülgalaktosamiini (GalNAc) jääkide rikastumist, mis on IgA-nefropaatias täheldatud ebanormaalselt glükosüleeritud IgA1-le iseloomulik glükoform. Neuraminidaasiga töötlemine suurendab märkimisväärselt Helix aspersa agglutiniini reaktiivsust, mis viitab sialüleeritud GalNAc-struktuuride olemasolule. DAKIKI-rakkudest saadud Golgi-rikastatud fraktsioone kasutavad funktsionaalsed analüüsid näitavad CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1 α 2,6-sialüültransferaasi aktiivsust, kinnitades nende rakkude võimet sialüleerida otseselt galaktoosivaegseid O-glükaane. Transkriptsioonanalüüsid näitavad ST6-GalNAcII, kuid mitte ST6-GalNAcI ekspressiooni, mis toetab ST6-GalNAcII rolli IgA1 hinge-piirkonna GalNAc α 2,6-sialüleerimise vahendamisel.

Lisaks kasulikkusele glükosüleerimise uurimisel on DAKIKI-d hinnatud vastuvõtlikkuse suhtes B-rakkude indutseerivatele faktoritele ja forbolestritele, mis võivad mõjutada immunoglobuliini sekretsiooni teatud inimese B-rakuliinides. Kuigi DAKIKI eritab konstitutiivselt IgA-d, on see lisatud EBV-transformeeritud B-rakkude mudelite hulka, mida kasutatakse immunoglobuliini tootmise ja diferentseerumisstaadiumite regulatsiooni uurimiseks. Tänu stabiilsele IgA1 sekretsiooniprofiilile ja galaktoosivaegustega, α 2,6-sialüleeritud hinge-piirkonna glükaanide reprodutseeritavale tootmisele on DAKIKI hästi iseloomustatud in vitro süsteem, mida kasutatakse IgA1 glükosüleerimise mehhanismide, B-rakkude diferentseerumise ja IgA-ga seotud häirete molekulaarse patogeneesi uurimiseks.

Organism

Inimene

Tissue

Perifeerne veri

Synonyms

DAKIKI, DAKIKI kloon 1

Omadused

Age

Täpsustamata

Gender

Täpsustamata

Ethnicity

Aafrika

Morphology

lümfoblast

DAKIKI rakud | 305928

Cell type B-rakk**Growth properties** Peatamine

Regulatiivsed andmed

Citation DAKIKI (Cytioni katalooginumber 305928)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3675

Biomolekulaarsed andmed

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**Dissociation Reagent** Puudub**Subculturing** Homogeniseerige kolvis olev rakususpensioon õrnalt pipeteerides üles-alla, seejärel võtke representatiivne proov, et määrata rakkude tihedus ml kohta. Lahjendage suspensiooni värske kultuurikeskkonnaga, et saavutada rakkude kontsentratsioon 1×10^5 rakku/ml, ja jaotage reguleeritud suspensioon uute kolvide vahel edasiseks kasvatamiseks.**Seeding density** $2-5 \times 10^5$ rakku/cm²**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikuna kasutame täielikku kasvukeskkonda + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist.

DAKIKI rakud | 305928

**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 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial 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 vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Tsentrifuugige segu 5 minutit 200 x g juures, visake ettevaatlikult ära külmutusvedelikku sisaldav supernatant.
7. Järgige punktis "Taastamisjärgne taastamine" kirjeldatud menetlust

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

**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 vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid 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