Product sheet

AKATA-solut | 305510

Yleisiä tietoja

Description	Burkittin lymfoomasta peräisin oleva AKATA-solulinja on laajalti käytetty malli Epstein-Barr-viruksen (EBV) latenssin ja reaktivoitumisen tutkimiseen. EBV on ubiikki herpesvirus, joka liittyy useisiin syöpiin, kuten Burkittin lymfoomaan, ja se muodostaa tyypillisesti latentin infektion B-soluihin. AKATA-soluissa EBV säilyy episomaalisessa tilassa tyypin I latenssiohjelmalla, joka ilmentää rajoitettua joukkoa viruksen geenejä, kuten EBNA-1:tä, EBER RNA:ta ja BamHI-A:n oikealle kääntyviä transkriptejä (BART). Tämän rajoitetun geeniekspression ansiosta virus voi säilyä isännässä käynnistämättä täyttä lyytistä sykliä. AKATA-solut voidaan kuitenkin laukaista siirtymään lyttiseen vaiheeseen, jossa virus lisääntyy aktiivisesti ja tuottaa jälkeläisiä. Tämä uudelleenaktivointi käynnistetään yleisesti ristiinkytkentäisten pintaimmunoglobuliinien avulla, mikä tekee AKATA-soluista erinomaisen välineen EBV:n uudelleenaktivointidynamiikan ja viruksen geenien säätelyn tutkimiseen. AKATA-solulinjaa hyödyntävässä tutkimuksessa on myös tutkittu kemoterapeuttisten aineiden vaikutusta EBV:n reaktivoitumiseen. Esimerkiksi etoposidin ja doksorubisiinin kaltaisten lääkkeiden on osoitettu vaikuttavan viruksen latenssiin. Etoposidi indusoi AKATA-soluissa apoptoosia, mutta se aktivoi EBV:n uudelleen vähemmän tehokkaasti kuin doksorubisiini, joka edistää lytisen geenin korkeampaa ilmentymistä ja viruksen jälkeläisten tuotantoa. Lisäksi tutkimuksissa, joissa on käytetty geeninmuokkaustekniikoita, kuten CRISPR/Cas9:ää, on tutkittu epigeneettisten säätelijöiden roolia AKATA-soluissa. Esimerkiksi histonimetyylitransferaasi EZH2:n tyrmääminen AKATA-soluissa häiritsee latenssin ylläpitoa vähentämällä histoni H3K27:n trimetylaatiota, mikä johtaa sekä latenttien että lytisten EBV-geenien lisääntyneeseen ilmentymiseen sekä viruksen lisääntyneeseen replikaatioon ja solujen lisääntymiseen. AKATA-soluilla on myös EBV:n läsnäoloon perustuvia erityyppisiä fenotyyppisiä ominaisuuksia, kuten lisääntynyt herkkyys apoptoosia indusoiville aineille ja vaihtelua apoptoosireitteihin liittyvässä geeniekspressiossa. Nämä erot tekevät EBV-positiivisista AKATA-soluista tehokkaan mallin, jonka avulla voidaan tutkia EBV:n vaikutusta isäntäsolujen eloonjäämiseen, geeniekspressioon ja viruksen elinkaareen, erityisesti syövän kehittymisen ja mahdollisten EBV:hen liittyviin pahanlaatuisiin sairauksiin kohdistuvien terapeuttisten toimenpiteiden yhteydessä.
Organism	Ihminen
Tissue	Veri
Disease	Burkittin lymfooma
Synonyms	Akata, Akata-BL, Akata BL, Akata-EC, Akata-varhaiskulttuuri

Ominaisuudet

Age	4 vuotta
Gender	Nainen
Ethnicity	Japanilainen

AKATA-solut | 305510

Morphology	Lymfoblastit
Cell type	B-solu
Growth properties	Jousitus

Sääntelytiedot

Citation	AKATA (Cytionin luettelonumero 305510)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0148

Biomolekyylitiedot

Viruses	Muuntaja: EBV

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Subculturing	Kerää suspensiosolut 15 ml:n putkeen ja pese kiinni olevat solut varovasti PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia (3-5 ml T25-pulloissa ja 5-10 ml T75-pulloissa). Levitä Accutasea (1-2 ml T25-pulloihin, 2,5 ml T75-pulloihin) varmistaen, että solukerros peittyy kokonaan. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 10 minuuttia. Inkuboinnin jälkeen yhdistetään ja sentrifugoidaan sekä suspensio että adherentit solut. Sentrifugoinnin jälkeen solupelletti suspendoidaan varovasti uudelleen ja siirretään solususpensio uusiin pulloihin, jotka sisältävät tuoretta väliaineita.
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

AKATA-solut | 305510

Thawing and Culturing Cells	1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana. 2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä. 3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle. 4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista. 5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen. 6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia. 7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi. 8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.