

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 reaktivointi käynnistetään yleisesti ristiinkytkentäisten pintaimmunoglobuliinien avulla, mikä tekee AKATA-soluista erinomaisen välineen EBV:n reaktivoitidynamiikan 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 tyrääminen 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 länäöloon perustuvia erityyppisiä fenotyyppejä 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

Säätelytiedot

Citation AKATA (Cytionin luettelonumero 305510)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0148

Biomolekyyli tiedot

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 syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa 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 antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä 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 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä 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 kuivajäädessä 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.

AKATA-solut | 305510

Storage Conditions

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

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.