

DAKIKI-solut | 305928

Yleisiä tietoja

Description

DAKIKI on ihmisen Epstein-Barr-viruksen (EBV) positiivinen B-lymfoblastoidinen solulinja, joka ilmentää pinnalla IgA1:tä ja erittää polymeeristä IgA1:tä. Se on alun perin peräisin nenänielun syöpää sairastavan aikuispotilaan perifeerisistä lymfocytyista, ja siitä on myöhemmin kehitetty jatkuvasti lisääntyvä suspensiokulttuuri. Solut osoittavat tyypillistä lymfoblastoidimorfologiaa ja kasvavat seerumilla täydennetyssä RPMI-pohjaisessa elatusaineessa. DAKIKI:ta on käytetty laajalti ihmisen IgA1:tä tuottavien B-solujen mallina, erityisesti tutkimuksissa, joissa tutkitaan immunoglobuliinisynteesiä, erittymisen säätelyä ja translaation jälkeistä glykosylaatiota.

Biokemialliset ja lektiinipohjaiset analyysit ovat osoittaneet, että DAKIKI-solujen erittämä IgA1 sisältää galaktoosipuutteisia O-sidottuja glykaaneja niveltävyysalueella. Monosakkaridikoostumusanalyysi ja lektiini-ELISA vahvistavat terminaalisten tai α 2,6-sialyloitujen N-asetyyliagalaktosamiini (GalNAc) -jäännösten rikastumisen, mikä on glykoformi, joka on ominaista IgA-nefropatiassa havaituille poikkeavasti glykosyloituneille IgA1-molekyyleille. Neuraminidaasihoito lisää merkittävästi Helix aspersa -agglutiniinin reaktiivisuutta, mikä viittaa sialyloitujen GalNAc-rakenteiden läsnäoloon. DAKIKI-soluista peräisin olevia Golgi-rikastettuja fraktioita käyttävät toiminnalliset määritykset osoittavat CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1 α 2,6-sialyylitransferaasiaktiivisuutta, mikä vahvistaa näiden solujen kyvyn sialyloida suoraan galaktoosipuutteisia O-glykaaneja. Transkriptiotutkimukset paljastavat ST6-GalNAcII:n ilmentymisen, mutta eivät ST6-GalNAcI:n, mikä tukee ST6-GalNAcII:n roolia välittäjänä IgA1:n niveltason GalNAc:n α 2,6-sialylaatiassa.

Glykosylaatiotutkimuksessa hyödyllisyytensä lisäksi DAKIKI:ta on arvioitu sen reagoivuuden suhteen B-soluja indusoiviin tekijöihin ja forbolesterihin, jotka voivat moduloida immunoglobuliinin erityistä tietyissä ihmisen B-solulinjoissa. Vaikka DAKIKI erittää IgA:ta konstitutiivisesti, se on sisällytetty EBV-transformoitujen B-solumallien joukkoon, joita käytetään immunoglobuliinituotannon säätelyn ja erilaistumistilojen tutkimiseen. Vakaan IgA1-eritysprofiilinsa ja galaktoosipuutteisten, α 2,6-sialyloitujen niveltason glykaanien toistettavan tuotannon ansiosta DAKIKI edustaa hyvin karakterisoitua in vitro -järjestelmää IgA1-glykosylaation mekanismien, B-solujen erilaistumisen ja IgA-liittyvien sairauksien molekyylipatogeneesin tutkimiseen.

Organism Ihminen

Tissue Perifeerinen veri

Synonyms DAKIKI, DAKIKI-klooni 1

Ominaisuudet

Age Määrittelemätön

Gender Määrittelemätön

Ethnicity Afrikkalainen

Morphology lymfoblasti

DAKIKI-solut | 305928

Cell type	B-solu
-----------	--------

Growth properties	Jousitus
-------------------	----------

Säätelytiedot

Citation	DAKIKI (Cytion-tuotenumero 305928)
----------	------------------------------------

Biosafety level	2
-----------------	---

NCBI_TaxID	9606
------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_3675
----------------------	-----------

Biomolekyylitiedot

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)
----------------	--

Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
-------------	---

Dissociation Reagent	Ei mitään
----------------------	-----------

Subculturing	Homogenoi solususpensio varovasti pullossa pipetoimalla ylös ja alas, ota sitten edustava näyte solutiheyden määrittämiseksi millilitraa kohti. Laimenna suspensio tuoreella viljelyalustalla solupitoisuudeksi 1×10^5 solua/ml ja jaa säädetty suspensio uusiin pulloihin jatkokäsittelyä varten.
--------------	---

Seeding density	$2-5 \times 10^5$ solua/cm ²
-----------------	---

Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
---------------	---------------------

Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa + 10 % DMSO:ta, jotta elinkelpoisuus olisi riittävä sulatuksen jälkeen.
---------------	---

DAKIKI-solut | 305928

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädettynä 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 mikrobilääkettä, 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-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 200 x g:n voimakkuudella 5 minuuttia ja hävitä varovasti pakastusmediaa sisältävä supernatantti.
7. Noudatetaan kohdassa Sulattamisen jälkeinen talteenotto kuvattua menettelyä

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %_{CO2}, kostutettu ilmakehä.

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.

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 ja molekyylianalyysi