

Cellules AKATA | 305510

Informations générales

Description

La lignée cellulaire AKATA, dérivée du lymphome de Burkitt, est un modèle largement utilisé pour étudier la latence et la réactivation du virus d'Epstein-Barr (EBV). L'EBV est un herpèsvirus ubiquitaire lié à une série de cancers, dont le lymphome de Burkitt, et il établit généralement une infection latente dans les cellules B. Dans les cellules AKATA, l'EBV est maintenu dans un état de latence et de réactivation. Dans les cellules AKATA, l'EBV est maintenu dans un état épisomal avec un programme de latence de type I, exprimant un ensemble limité de gènes viraux tels que l'EBNA-1, les ARN EBER et les transcriptions BamHI-A rightward (BART). Cette expression génétique restreinte permet au virus de persister dans l'hôte sans initier un cycle lytique complet. Cependant, les cellules AKATA peuvent être déclenchées pour entrer dans la phase lytique, au cours de laquelle le virus se réplique activement et produit des descendants. Cette réactivation est généralement induite par la réticulation des immunoglobulines de surface, ce qui fait des cellules AKATA un excellent outil pour étudier la dynamique de réactivation de l'EBV et la régulation des gènes viraux.

La recherche utilisant la lignée cellulaire AKATA a également examiné l'impact des agents chimiothérapeutiques sur la réactivation de l'EBV. Par exemple, il a été démontré que des médicaments comme l'étoposide et la doxorubicine influencent la latence virale. L'étoposide induit l'apoptose dans les cellules AKATA mais réactive l'EBV moins efficacement que la doxorubicine, qui favorise des niveaux plus élevés d'expression de gènes lytiques et de production de progéniture virale. En outre, des études faisant appel à des techniques d'édition de gènes, telles que CRISPR/Cas9, ont exploré le rôle des régulateurs épigénétiques dans les cellules AKATA. Par exemple, l'élimination de l'histone méthyltransférase EZH2 dans les cellules AKATA perturbe le maintien de la latence en réduisant la triméthylation de l'histone H3K27, ce qui entraîne une augmentation de l'expression des gènes EBV latents et lytiques, ainsi qu'une augmentation de la réplication virale et de la prolifération cellulaire.

Les cellules AKATA présentent également des caractéristiques phénotypiques distinctes en fonction de la présence de l'EBV, telles qu'une sensibilité accrue aux agents induisant l'apoptose et des variations dans l'expression des gènes liés aux voies apoptotiques. Ces différences font des cellules AKATA positives pour l'EBV un modèle puissant pour disséquer l'influence de l'EBV sur la survie des cellules hôtes, l'expression des gènes et le cycle de vie du virus, en particulier dans le contexte du développement du cancer et des interventions thérapeutiques potentielles ciblant les tumeurs malignes associées à l'EBV.

Organism Humain

Tissue Le sang

Disease Lymphome de Burkitt

Synonyms Akata, Akata-BL, Akata BL, Akata-EC, Akata-Culture précoce

Caractéristiques

Age 4 ans

Gender Femme

Cellules AKATA | 305510**Ethnicity** Japonais**Morphology** Lymphoblaste**Cell type** Cellule B**Growth properties** Suspension**Données réglementaires****Citation** AKATA (numéro de catalogue Cytion 305510)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0148**Données biomoléculaires****Viruses** Transformant : EBV**Manipulation****Culture Medium** RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820700a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS**Subculturing** Rassembler les cellules en suspension dans un tube de 15 ml et laver délicatement les cellules adhérentes avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium (utiliser 3-5 ml pour les flacons T25 et 5-10 ml pour les flacons T75). Appliquer Accutase (1-2 ml pour les flacons T25, 2,5 ml pour les flacons T75) en veillant à couvrir entièrement la couche cellulaire. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 10 minutes. Après l'incubation, combiner et centrifuger la suspension et les cellules adhérentes. Après centrifugation, remettre soigneusement en suspension le culot cellulaire et transférer la suspension cellulaire dans de nouveaux flacons contenant du milieu frais.**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules AKATA | 305510

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules AKATA | 305510

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.