

Cellules DAKIKI | 305928

Informations générales

Description

DAKIKI est une lignée cellulaire lymphoblastoïde B humaine positive au virus d'Epstein-Barr (EBV) qui exprime l'IgA1 de surface et sécrète de l'IgA1 polymérique. Elle a été initialement dérivée de lymphocytes périphériques d'un patient adulte atteint d'un carcinome nasopharyngé, puis établie sous forme de culture en suspension à prolifération continue. Les cellules présentent une morphologie lymphoblastoïde typique et se développent dans des milieux à base de RPMI enrichis en sérum. DAKIKI est largement utilisée comme modèle de cellules B humaines productrices d'IgA1, en particulier pour les études portant sur la synthèse des immunoglobulines, la régulation de la sécrétion et la glycosylation post-traductionnelle.

Des analyses biochimiques et basées sur des lectines ont démontré que l'IgA1 sécrétée par les cellules DAKIKI présente des glycanes O-liés déficients en galactose dans la région charnière. L'analyse de la composition en monosaccharides et le test ELISA à la lectine confirment l'enrichissement en résidus terminaux ou en N-acétylgalactosamine (GalNAc) α 2,6-sialylée, une glycoforme caractéristique de l'IgA1 glycosylée de manière aberrante observée dans la néphropathie à IgA. Le traitement par la neuraminidase augmente considérablement la réactivité de l'agglutinine *Helix aspersa*, indiquant la présence de structures GalNAc sialylées. Des tests fonctionnels utilisant des fractions enrichies en Golgi provenant de cellules DAKIKI démontrent une activité α 2,6-sialyltransférase CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1, confirmant la capacité de ces cellules à sialyler directement des glycanes O-liés déficients en Gal. Les analyses transcriptionnelles révèlent l'expression de ST6-GalNAcII mais pas de ST6-GalNAcI, ce qui confirme le rôle de ST6-GalNAcII dans la médiation de la sialylation α 2,6 du GalNAc de la région charnière dans l'IgA1.

Outre son utilité dans la recherche sur la glycosylation, DAKIKI a été évalué pour sa réactivité aux facteurs inducteurs de cellules B et aux esters de phorbol, qui peuvent moduler la sécrétion d'immunoglobulines dans certaines lignées de cellules B humaines. Bien que DAKIKI sécrète de manière constitutive de l'IgA, il a été inclus parmi les modèles de cellules B transformées par l'EBV utilisés pour étudier la régulation de la production d'immunoglobulines et les états de différenciation. Grâce à son profil de sécrétion d'IgA1 stable et à sa production reproductible de glycanes de la région charnière déficients en galactose et α 2,6-sialylés, DAKIKI représente un système in vitro bien caractérisé pour étudier les mécanismes de glycosylation de l'IgA1, la différenciation des cellules B et la pathogenèse moléculaire des troubles associés à l'IgA.

Organism

Humain

Tissue

Sang périphérique

Synonyms

DAKIKI, DAKIKI Clone 1

Caractéristiques

Age

Non spécifié

Gender

Non spécifié

Ethnicity

Africains

Cellules DAKIKI | 305928

Morphology lymphoblaste**Cell type** cellule B**Growth properties** Suspension

Données réglementaires

Citation DAKIKI (référence Cytion 305928)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3675

Données biomoléculaires

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**Dissociation Reagent** Aucun**Subculturing** Homogénéisez délicatement la suspension cellulaire dans le flacon en pipettant de haut en bas, puis prélevez un échantillon représentatif afin de déterminer la densité cellulaire par ml. Diluez la suspension afin d'obtenir une concentration cellulaire de 1×10^5 cellules/ml avec un milieu de culture frais, puis répartissez la suspension ajustée dans de nouveaux flacons pour poursuivre la culture.**Seeding density** $2 \text{ à } 5 \times 10^5 \text{ cellules/cm}^2$ **Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation.

Cellules DAKIKI | 305928

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 200 x g pendant 5 minutes, jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation.
7. Suivre la procédure décrite sous Récupération après décongélation

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosphère humidifiée.

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 qualité et analyse moléculaire