

## AKATA sejtek | 305510

## Általános információk

## Description

A Burkitt-limfómából származó AKATA-sejtvonal széles körben használt modell az Epstein-Barr-vírus (EBV) latenciájának és reaktiválásának tanulmányozására. Az EBV egy mindenütt jelenlévő herpeszvírus, amely számos rákos megbetegedéshez, köztük a Burkitt-limfómához is kapcsolódik, és jellemzően látens fertőzést hoz létre a B-sejtekben. Az AKATA sejtekben az EBV epizomális állapotban marad, I-es típusú latenciaprogrammal, amely a vírusgének korlátozott készletét, például az EBNA-1-et, az EBER RNS-eket és a BamHI-A jobbra irányuló transzkriptumokat (BART) expresszálja. Ez a korlátozott génexpresszió lehetővé teszi a vírus számára, hogy a teljes lítikus ciklus beindítása nélkül fennmaradjon a gazdaszervezetben. Az AKATA sejtek azonban kiválthatják a lítikus fázisba való belépést, ahol a vírus aktívan szaporodik és utódokat termel. Ezt a reaktiválódást általában a felületi immunglobulinok keresztkötésével indukálják, ami az AKATA sejteket kiváló eszközzé teszi az EBV reaktiválódási dinamikájának és a vírus génszabályozásának tanulmányozására.

Az AKATA sejtvonalat használó kutatások a kemoterápiás szerek EBV-reaktiválódásra gyakorolt hatását is vizsgálták. Kimutatták például, hogy az olyan gyógyszerek, mint az etopozid és a doxorubicin befolyásolják a vírus latenciáját. Az etopozid apoptózist indukál az AKATA sejtekben, de kevésbé hatékonyan reaktiválja az EBV-t, mint a doxorubicin, amely elősegíti a lítikus génexpresszió magasabb szintjét és a vírus utódok termelését. Emellett génszerkesztési technikákat, például a CRISPR/Cas9-et alkalmazó tanulmányok az epigenetikai szabályozók szerepét vizsgálták az AKATA sejtekben. Például a hiszton-metiltranszferáz EZH2 kiütése AKATA sejtekben megzavarja a latencia fenntartását azáltal, hogy csökkenti a H3K27 hiszton trimetilációját, ami mind a látens, mind a lítikus EBV-gének fokozott expressziójához, valamint fokozott vírusreplikációhoz és sejtproliferációhoz vezet.

Az AKATA sejtek az EBV jelenléte alapján eltérő fenotípusos jellemzőket is mutatnak, mint például az apoptózist indukáló szerekkel szembeni fokozott érzékenység és az apoptotikus útvonalakhoz kapcsolódó génexpresszió eltérései. Ezek a különbségek az EBV-pozitív AKATA sejteket hatékony modellté teszik az EBV-nek a gazdaszövet túlélésére, a génexpresszióra és a vírus életciklusára gyakorolt hatásának feltárására, különösen a rák kialakulásával és az EBV-vel összefüggő rosszindulatú daganatos betegségeket célzó lehetséges terápiás beavatkozásokkal összefüggésben.

<b>Organism</b>	Emberi
<b>Tissue</b>	Vér
<b>Disease</b>	Burkitt limfóma
<b>Synonyms</b>	Akata, Akata-BL, Akata BL, Akata-EC, Akata-Early Culture

## Jellemzők

**Age** 4 év

**Gender** Női

**Ethnicity** Japán

## AKATA sejtek | 305510

**Morphology** Limfoblasztok**Cell type** B sejt**Growth properties** Felfüggesztés

## Szabályozási adatok

**Citation** AKATA (Cytion katalógusszám: 305510)**Biosafety level** 2**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0148

## Biomolekuláris adatok

**Viruses** Transzformáns: EBV

## A kezelése

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion 820700a cikkszám)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Subculturing** Gyűjtse össze a szuszpenziós sejteket egy 15 ml-es csőbe, és óvatosan mossa át a megtapadt sejteket kalciumot és magnéziumot nem tartalmazó PBS-szel (T25 lombik esetén 3-5 ml-t, T75 lombik esetén 5-10 ml-t használjon). Vigyen fel Accutase-t (1-2 ml-t T25 lombikokhoz, 2,5 ml-t T75 lombikokhoz), biztosítva a sejtréteg teljes lefedettségét. Hagyjuk a sejteket 10 percig szobahőmérsékleten inkubálni. Az inkubációt követően egyesítsük és centrifugáljuk a szuszpenziót és az adhezív sejteket. A centrifugálás után óvatosan reszuszpendáljuk a sejt pelletet, és a sejtuszuszpenziót helyezzük át friss tápfolyadékot tartalmazó új lombikokba.**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

## AKATA sejtek | 305510

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ °C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ °C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ °C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

**Flask Coating**

Nincs

**Freezing  
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping  
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

## AKATA sejtek | 305510

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.