

DAKIKI sejtek | 305928

Általános információk

Description

A DAKIKI egy humán Epstein-Barr-vírus (EBV)-pozitív B-limfoblasztos sejtvonal, amely felszíni IgA1-et expresszál és polimer IgA1-et szekretál. Eredetileg egy orr-garat-karcinómában szenvedő felnőtt beteg perifériás limfocitáiból nyerték ki, majd folyamatosan szaporodó szuszpenziós tenyészetként állították elő. A sejtek tipikus limfoblasztos morfológiát mutatnak, és szérummal kiegészített RPMI-alapú táptalajon növekednek. A DAKIKI-t széles körben használják humán IgA1-termelő B-sejtek modelljeként, különösen az immunglobulin-szintézis, a szekréció szabályozása és a transzlációs utáni glikoziláció vizsgálatára.

Biokémiai és lektin-alapú elemzések kimutatták, hogy a DAKIKI sejtek által szekretált IgA1 galaktózhányos O-kapcsolt glikánokat mutat a csukló régióban. A monoszacharid-összetétel elemzése és a lektin-ELISA megerősíti a terminális vagy α 2,6-sialilált N-acetilgalaktózamin (GalNAc) maradványok gazdagságát, amely egy olyan glikoforma, amely jellemző az IgA-nefropátiában megfigyelt rendellenesen glikozilált IgA1-re. A neuraminidáz-kezelés jelentősen növeli a Helix aspersa agglutininrel szembeni reaktivitást, ami a sialilált GalNAc-szerkezetek jelenlétét jelzi. A DAKIKI-sejtekből származó, Golgi-gazdag frakciókat felhasználó funkcionális vizsgálatok kimutatták a CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1 α 2,6-sialiltranszferáz aktivitást, megerősítve ezeknek a sejteknek azt a képességét, hogy közvetlenül sialilálják a galaktózhányos O-glikánokat. Transzkripció elemzések ST6-GalNAcII, de nem ST6-GalNAcI expressziót mutattak ki, alátámasztva az ST6-GalNAcII szerepét az IgA1 csukló régiójában található GalNAc α 2,6-sialilációjának közvetítésében.

A glikozilációs kutatásokban betöltött hasznosságán túl a DAKIKI-t a B-sejt-indukáló faktorokra és a forbol-észterekre való reagálóképességét is értékelték, amelyek bizonyos emberi B-sejtvonalakban modulálhatják az immunglobulin szekrécióját. Mivel a DAKIKI konstitutív módon szekretál IgA-t, felvették az EBV-transzformált B-sejt modellek közé, amelyeket az immunglobulin termelés szabályozásának és a differenciálódási állapotok tanulmányozására használnak. Stabil IgA1-szekréciós profiljának és a galaktózhányos, α 2,6-sialilált csukló régió-glikánok reprodukálható termelésének köszönhetően a DAKIKI egy jól jellemzett in vitro rendszert képvisel az IgA1-glikoziláció, a B-sejt-differenciálódás és az IgA-társult rendellenességek molekuláris patogenezisének vizsgálatához.

Organism

Emberi

Tissue

Perifériás vér

Synonyms

DAKIKI, DAKIKI 1. klón

Jellemzők

Age

Meghatározatlan

Gender

Meghatározatlan

Ethnicity

Afrikai

Morphology

limfoblaszt

DAKIKI sejtek | 305928

Cell type	B-sejt
Growth properties	Felfüggesztés

Szabályozási adatok

Citation	DAKIKI (Cytion katalógusszám: 305928)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3675

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820700a cikkszám)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Nincs
Subculturing	A lombikban lévő sejtszuszpenziót óvatosan homogenizálja fel-le pipettázással, majd vegyen egy reprezentatív mintát a sejtsűrűség ml-enkénti meghatározásához. A szuszpenziót hígítsa friss tenyésztőközeggel 1×10^5 sejt/ml sejtkoncentráció eléréséig, majd az így beállított szuszpenziót új lombikokba osztva továbbtenyésztse.
Seeding density	$2-5 \times 10^5$ sejt/cm ²
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvastás utáni életképesség érdekében.

DAKIKI sejtek | 305928

**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°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°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 felnyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 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 $200 \times g$ -nél 5 percig, a fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót óvatosan dobjuk el.
7. Kövesse a felolvasztás utáni helyreállításnál leírt eljárást

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

**Shipping
Conditions**

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

**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 és molekuláris elemzés