

Sel DAKIKI | 305928

Informasi umum

Description

DAKIKI adalah garis sel limfoblastoid B manusia yang positif terhadap virus Epstein-Barr (EBV), yang mengekspresikan IgA1 permukaan dan mengeluarkan IgA1 polimerik. Garis sel ini awalnya diisolasi dari limfosit perifer seorang pasien dewasa dengan karsinoma nasofaring, dan kemudian dikembangkan menjadi kultur suspensi yang terus berkembang biak. Sel-sel ini menunjukkan morfologi limfoblastoid yang khas dan tumbuh dalam media berbasis RPMI yang ditambah dengan serum. DAKIKI telah banyak digunakan sebagai model sel B penghasil IgA1 manusia, terutama untuk penelitian yang menyelidiki sintesis imunoglobulin, regulasi sekresi, dan glikosilasi pasca-translasi.

Analisis biokimia dan berbasis lektin telah menunjukkan bahwa IgA1 yang disekresikan oleh sel DAKIKI menunjukkan glikan terikat-O yang kekurangan galaktosa di dalam daerah engsel. Analisis komposisi monosakarida dan ELISA lektin mengonfirmasi adanya penumpukan residu N-asetilgalaktosamin (GalNAc) terminal atau yang disialilasi $\alpha 2,6$, suatu bentuk glikosilasi yang khas pada IgA1 yang mengalami glikosilasi abnormal yang diamati pada nefropati IgA. Perlakuan dengan neuraminidase secara signifikan meningkatkan reaktivitas aglutinin Helix aspersa, menunjukkan adanya struktur GalNAc yang disialilasi. Uji fungsional menggunakan fraksi yang diperkaya Golgi dari sel DAKIKI menunjukkan aktivitas $\alpha 2,6$ -sialiltransferase CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1, mengonfirmasi kemampuan sel-sel ini untuk secara langsung menyialilasi glikan O-terikat yang kekurangan galaktosa. Analisis transkripsional mengungkapkan ekspresi ST6-GalNAcII tetapi bukan ST6-GalNAcI, mendukung peran ST6-GalNAcII dalam memediasi sialilasi $\alpha 2,6$ pada GalNAc di daerah engsel IgA1.

Selain kegunaannya dalam penelitian glikosilasi, DAKIKI telah dievaluasi terkait responsnya terhadap faktor induksi sel B dan ester phorbol, yang dapat memodulasi sekresi imunoglobulin pada beberapa garis sel B manusia. Meskipun DAKIKI secara konstitutif menyekresikan IgA, sel ini telah dimasukkan ke dalam model sel B yang diinduksi EBV untuk mempelajari regulasi produksi imunoglobulin dan status diferensiasi. Berkat profil sekresi IgA1 yang stabil dan produksi yang dapat direproduksi dari glikan daerah engsel yang defisien galaktosa dan disialilasi $\alpha 2,6$, DAKIKI mewakili sistem in vitro yang terdefinisi dengan baik untuk menyelidiki mekanisme glikosilasi IgA1, diferensiasi sel B, dan patogenesis molekuler gangguan yang terkait dengan IgA.

Organism

Manusia

Tissue

Darah tepi

Synonyms

DAKIKI, DAKIKI Klon 1

Karakteristik

Age

Tidak ditentukan

Gender

Tidak ditentukan

Ethnicity

Afrika

Morphology

limfoblast

Sel DAKIKI | 305928

Cell type	Sel B
Growth properties	Penangguhan

Data Peraturan

Citation	DAKIKI (Nomor katalog Cytion 305928)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3675

Data Biomolekuler

Penanganan

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM Glutamin stabil, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Nomor artikel Cytion 820700a)
Supplements	Tambahkan media dengan 10% FBS
Dissociation Reagent	Tidak ada
Subculturing	Homogenisasi secara perlahan suspensi sel dalam flask dengan cara menghisap dan mengeluarkan cairan menggunakan pipet, lalu ambil sampel representatif untuk menentukan kepadatan sel per ml. encerkan suspensi tersebut hingga mencapai konsentrasi sel 1×10^5 sel/ml menggunakan medium kultur segar, dan bagi suspensi yang telah disesuaikan ke dalam flask baru untuk budidaya lebih lanjut.
Seeding density	2 hingga 5×10^5 sel/cm ²
Fluid renewal	2 hingga 3 kali per minggu
Freeze medium	Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap + 10% DMSO untuk kelangsungan hidup pasca-pencairan yang memadai.

Sel DAKIKI | 305928

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $200 \times g$ selama 5 menit, dengan hati-hati buang supernatan yang mengandung media pembekuan.
7. Ikuti prosedur yang dijelaskan di bawah Pemulihan Pasca Pencairan

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196°C . Penyimpanan pada suhu -80°C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Pengendalian Mutu & Analisis Molekuler