

Cellule AKATA | 305510

Informazioni generali

Description

La linea cellulare AKATA, derivata dal linfoma di Burkitt, è un modello ampiamente utilizzato per studiare la latenza e la riattivazione del virus di Epstein-Barr (EBV). L'EBV è un herpesvirus ubiquitario collegato a una serie di tumori, tra cui il linfoma di Burkitt, e in genere stabilisce un'infezione latente all'interno delle cellule B. Nelle cellule AKATA, l'EBV è mantenuto in uno stato episomale con un programma di latenza di tipo I, che esprime un insieme limitato di geni virali come EBNA-1, RNA EBER e BamHI-A rightward transcripts (BART). Questa espressione genica limitata consente al virus di persistere nell'ospite senza avviare un ciclo litico completo. Tuttavia, le cellule AKATA possono essere riattivate per entrare nella fase litica, dove il virus si replica attivamente e produce progenie. Questa riattivazione è comunemente indotta attraverso il cross-linking delle immunoglobuline di superficie, il che rende le cellule AKATA uno strumento eccellente per studiare le dinamiche di riattivazione dell'EBV e la regolazione dei geni virali.

La ricerca che utilizza la linea cellulare AKATA ha anche esaminato l'impatto degli agenti chemioterapici sulla riattivazione dell'EBV. Ad esempio, è stato dimostrato che farmaci come l'etoposide e la doxorubicina influenzano la latenza virale. L'etoposide induce l'apoptosi nelle cellule AKATA ma riattiva l'EBV in modo meno efficace rispetto alla doxorubicina, che promuove livelli più elevati di espressione genica litica e di produzione di progenie virale. Inoltre, studi che hanno coinvolto tecniche di editing genico, come CRISPR/Cas9, hanno esplorato il ruolo dei regolatori epigenetici nelle cellule AKATA. Ad esempio, il knockout dell'istone metiltransferasi EZH2 nelle cellule AKATA interrompe il mantenimento della latenza riducendo la trimetilazione dell'istone H3K27, con conseguente aumento dell'espressione dei geni EBV latenti e litici, nonché una maggiore replicazione virale e proliferazione cellulare.

Le cellule AKATA mostrano anche caratteristiche fenotipiche distinte in base alla presenza di EBV, come una maggiore sensibilità agli agenti che inducono l'apoptosi e variazioni nell'espressione dei geni correlati alle vie apoptotiche. Queste differenze rendono le cellule AKATA EBV-positivo un modello potente per analizzare l'influenza dell'EBV sulla sopravvivenza delle cellule ospiti, l'espressione genica e il ciclo di vita del virus, in particolare nel contesto dello sviluppo del cancro e di potenziali interventi terapeutici mirati alle neoplasie associate all'EBV.

Organism Umano

Tissue Sangue

Disease Linfoma di Burkitt

Synonyms Akata, Akata-BL, Akata BL, Akata-EC, Akata-Cultura precoce

Caratteristiche

Age 4 anni

Gender Donna

Ethnicity Giapponese

Cellule AKATA | 305510**Morphology** Linfoblasto**Cell type** Cella B**Growth properties** Sospensione**Dati normativi****Citation** AKATA (numero di catalogo Cytion 305510)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0148**Dati biomolecolari****Viruses** Trasformante: EBV**Manipolazione****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO₃ (articolo Cytion numero 820700a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Subculturing** Raccogliere le cellule in sospensione in una provetta da 15 ml e lavare delicatamente le cellule aderenti con PBS privo di calcio e magnesio (utilizzare 3-5 ml per le fiasche T25 e 5-10 ml per le fiasche T75). Applicare Accutase (1-2 ml per le beute T25, 2,5 ml per le beute T75) assicurando la copertura completa dello strato cellulare. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 10 minuti. Dopo l'incubazione, unire e centrifugare sia la sospensione che le cellule aderenti. Dopo la centrifugazione, risospendere accuratamente il pellet cellulare e trasferire la sospensione cellulare in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule AKATA | 305510

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule AKATA | 305510

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.