

Cellule DAKIKI | 305928

Informazioni generali

Description

DAKIKI è una linea cellulare linfoblastoide B umana positiva al virus di Epstein-Barr (EBV) che esprime IgA1 di superficie e secerne IgA1 polimerica. È stata originariamente derivata dai linfociti periferici di un paziente adulto affetto da carcinoma rinofaringeo e successivamente stabilizzata come coltura in sospensione a proliferazione continua. Le cellule presentano una morfologia linfoblastoide tipica e crescono in terreni di coltura a base di RPMI integrati con siero. DAKIKI è stata ampiamente utilizzata come modello di cellule B umane produttrici di IgA1, in particolare per studi che indagano la sintesi delle immunoglobuline, la regolazione della secrezione e la glicosilazione post-traduzionale.

Analisi biochimiche e basate sulle lectine hanno dimostrato che l'IgA1 secreta dalle cellule DAKIKI presenta glicani O-legati carenti di galattosio all'interno della regione cerniera. L'analisi della composizione dei monosaccaridi e l'ELISA con lectine confermano l'arricchimento di residui terminali o di N-acetilgalattosamina (GalNAc) sialilata in posizione α 2,6, una forma glicosilata caratteristica dell'IgA1 glicosilata in modo anomalo osservata nella nefropatia da IgA. Il trattamento con neuraminidasi aumenta notevolmente la reattività dell'agglutinina Helix aspersa, indicando la presenza di strutture GalNAc sialilate. Test funzionali che utilizzano frazioni arricchite di Golgi provenienti da cellule DAKIKI dimostrano l'attività α 2,6-sialiltransferasica CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1, confermando la capacità di queste cellule di sialilare direttamente i glicani O-legati privi di galattosio. Le analisi trascrizionali rivelano l'espressione di ST6-GalNAcII ma non di ST6-GalNAcI, a sostegno del ruolo di ST6-GalNAcII nella mediazione della sialilazione α 2,6 del GalNAc della regione cerniera nell'IgA1.

Oltre alla sua utilità nella ricerca sulla glicosilazione, DAKIKI è stato valutato per la sua reattività ai fattori induttori delle cellule B e agli esteri di forbol, che possono modulare la secrezione di immunoglobuline in alcune linee cellulari di B-cellule umane. Sebbene DAKIKI secerna IgA in modo costitutivo, è stato incluso tra i modelli di B-cellule trasformate dall'EBV utilizzati per studiare la regolazione della produzione di immunoglobuline e gli stati di differenziazione. Grazie al suo profilo di secrezione stabile di IgA1 e alla produzione riproducibile di glicani della regione cerniera α 2,6-sialilati e privi di galattosio, DAKIKI rappresenta un sistema in vitro ben caratterizzato per lo studio dei meccanismi di glicosilazione dell'IgA1, della differenziazione delle cellule B e della patogenesi molecolare dei disturbi associati all'IgA.

Organism

Umano

Tissue

Sangue periferico

Synonyms

DAKIKI, DAKIKI Clone 1

Caratteristiche

Age

Non specificato

Gender

Non specificato

Ethnicity

Africano

Morphology

linfoblasto

Cellule DAKIKI | 305928

Cell type	cellula B
Growth properties	Sospensione

Dati normativi

Citation	DAKIKI (codice Cytion 305928)
-----------------	-------------------------------

Biosafety level	2
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_3675
-----------------------------	-----------

Dati biomolecolari

Manipolazione

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
--------------------	---

Dissociation Reagent	Nessuno
-----------------------------	---------

Subculturing	Omogeneizzare delicatamente la sospensione cellulare nel pallone pipettando verso l'alto e verso il basso, quindi prelevare un campione rappresentativo per determinare la densità cellulare per ml. Diluire la sospensione per ottenere una concentrazione cellulare di 1×10^5 cellule/ml con terreno di coltura fresco e aliquotare la sospensione regolata in nuovi palloni per l'ulteriore coltivazione.
---------------------	---

Seeding density	da $2 \text{ a } 5 \times 10^5$ cellule/cm ²
------------------------	---

Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
----------------------	-------------------------------

Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo + 10% DMSO per ottenere un'adeguata vitalità post-scongellamento.
----------------------	--

Cellule DAKIKI | 305928

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 200 x g per 5 minuti, scartando con cura il surnatante contenente il terreno di congelamento.
7. Seguire la procedura descritta in Recupero post-scongelo

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera umidificata.

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.

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 qualità e analisi molecolare