Product sheet

AKATA ląstelės | 305510

Bendra informacija

Description	AKATA ląstelių linija, gauta iš Burkito limfomos, yra plačiai naudojamas modelis Epšteino-Baro viruso (EBV) latentiškumui ir reaktyvacijai tirti. EBV yra visur paplitęs herpesvirusas, susijęs su daugeliu vėžinių susirgimų, įskaitant Burkito limfomą, ir paprastai B ląstelėse sukelia latentinę infekciją. AKATA ląstelėse EBV palaikomas epizominėje būsenoje su I tipo latencijos programa, išreiškiančia ribotą viruso genų rinkinį, pavyzdžiui, EBNA-1, EBER RNR ir BamHI-A į dešinę nukreiptus transkriptus (BART). Ši ribota genų raiška leidžia virusui išlikti šeimininko organizme, nepradėjus pilno lytinio ciklo. Tačiau AKATA ląstelės gali būti paskatintos pereiti į lizinę fazę, kurios metu virusas aktyviai replikuojasi ir gamina palikuonis. Ši reaktyvacija paprastai sukeliama kryžminant paviršiaus imunoglobulinus, todėl AKATA ląstelės yra puikus įrankis EBV reaktyvacijos dinamikai ir viruso genų reguliavimui tirti. Tyrimuose, kuriuose naudojama AKATA ląstelių linija, taip pat buvo nagrinėjamas chemoterapinių medžiagų poveikis EBV reaktyvacijai. Pavyzdžiui, nustatyta, kad tokie vaistai kaip etopozidas ir doksorubicinas turi įtakos viruso latentiškumui. Etopozidas AKATA ląstelėse sukelia apoptozę, tačiau EBV reaktyvuoja ne taip veiksmingai kaip doksorubicinas, kuris skatina didesnę ličio genų raišką ir viruso palikuonių gamybą. Be to, tyrimuose, kuriuose naudojami genų redagavimo metodai, pavyzdžiui, CRISPR/Cas9, buvo nagrinėjamas epigenetinių reguliatorių vaidmuo AKATA ląstelėse. Pavyzdžiui, AKATA ląstelėse nukautavus histonų metiltransferazę EZH2, sutrinka latentiškumo palaikymas, nes sumažėja histono H3K27 trimetilinimas, dėl to padidėja latentinių ir latentinių EBV genų raiška, taip pat sustiprėja viruso replikacija ir ląstelių proliferacija. AKATA ląstelės taip pat pasižymi skirtingomis fenotipinėmis savybėmis, priklausančiomis nuo EBV buvimo, pavyzdžiui, padidėjusiu jautrumu apoptozę sukeliančioms medžiagoms ir genų, susijusių su apoptozės keliais, raiškos pokyčiais. Dėl šių skirtumų EBV teigiamos AKATA ląstelės yra veiksmingas modelis EBV įtakai šeimininko ląstelių išgyvenimui, genų raiškai ir viruso gyvavimo ciklui tirti, ypač vėžio vystymosi ir galimų terapinių intervencijų, skirtų su EBV susijusiems piktybiniams navikams, kontekste.
Organism	Žmogus
Tissue	Kraujas
Disease	Burkito limfoma
Synonyms	Akata, Akata-BL, Akata BL, Akata-EC, Akata-Early Culture

Charakteristikos

Age	4 metai
Gender	Moteris
Ethnicity	Japonų
Morphology	Limfoblastai

Product sheet

AKATA ląstelės | 305510

Cell type	B ląstelė
Growth properties	Pakaba

Reguliavimo duomenys

Citation	AKATA (Cytion katalogo numeris 305510)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0148

Biomolekuliniai duomenys

Viruses	Transformantas: EBV

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Subculturing	Surinkite ląstelių suspensiją į 15 ml mėgintuvėlį ir švelniai nuplaukite prilipusias ląsteles PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio (naudokite 3-5 ml T25 kolboms ir 5-10 ml T75 kolboms). Užtepkite "Accutase" (1-2 ml T25 kolboms, 2,5 ml T75 kolboms), kad visiškai padengtumėte ląstelių sluoksnį. Leiskite ląstelėms 10 minučių inkubuotis kambario temperatūroje. Po inkubacijos sumaišykite ir centrifuguokite suspensiją ir prilipusias ląsteles. Po centrifugavimo atsargiai resuspenduokite ląstelių granules ir perkelkite ląstelių suspensiją į naujas kolbas su šviežia terpe.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

AKATA ląstelės | 305510

Thawing and Culturing Cells	1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra. 2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti. 3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis. 4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu. 5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite. 6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais. 7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą. 8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra
Freezing Procedure	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.