

AKATA ląstelės | 305510

Bendra informacija

Description

AKATA ląstelių linija, gauta iš Burkito limfomos, yra plačiai naudojamas modelis Epšteino-Baro viruso (EBV) latentškumui 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 replikuoja ir gamina palikuonis. Ši reaktyvacija paprastai sukelia 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 latentškumui. 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, atliekant tyrimus, kuriuose naudojami genų redagavimo metodai, pavyzdžiui, CRISPR/Cas9, buvo tiriamas epigenetinių reguliatorių vaidmuo AKATA ląstelėse. Pavyzdžiui, AKATA ląstelėse nukautavus histonų metiltransferazę EZH2, sutrinka latentškumo palaikymas, nes sumažėja histono H3K27 trimetilimas, 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 piktybiniais 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

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 perkelti 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

AKATA ląstelės | 305510

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 skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

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.