

DAKIKI ląstelės | 305928

Bendra informacija

Description

DAKIKI – tai žmogaus Epštejno-Barro viruso (EBV) teigiama B-limfoblastoidinė ląstelių linija, kuri ekspresuoja paviršinį IgA1 ir išskiria polimerinį IgA1. Ji buvo išskirta iš suaugusio paciento, sergančio nosiaryklės karcinoma, periferinių limfocitų ir vėliau įtvirtinta kaip nuolat besidauginanti suspensijos kultūra. Ląstelės pasižymi tipine limfoblastoidų morfologija ir auga RPMI pagrindu paruošiose terpėse, papildytose serumu. DAKIKI plačiai naudojama kaip žmogaus IgA1 gaminančių B ląstelių modelis, ypač tyrimams, kuriuose nagrinėjama imunoglobulino sintezė, sekrecijos reguliavimas ir posttransliacinė glikozilimas.

Biocheminiai ir lėktinų pagrįsti tyrimai parodė, kad DAKIKI ląstelių išskiriamas IgA1 turi galaktozės trūkumą turinčių O-susietų glikanų sąnario srityje. Monosacharidų sudėties analizė ir lėktinų ELISA patvirtina galinių arba $\alpha 2,6$ -sialilintų N-acetilgalaktozamino (GalNAc) likučių, būdingų nenormaliai glikozilintam IgA1, stebimam IgA nefropatijoje, gausą. Neuraminidazės apdorojimas žymiai padidina Helix aspersa aglutinino reaktyvumą, o tai rodo sialilintų GalNAc struktūrų buvimą. Funkciniai tyrimai, kuriuose naudojamos DAKIKI ląstelių frakcijos, praturtintos Golgi aparatu, rodo CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1 $\alpha 2,6$ -sialiltransferazės aktyvumą, patvirtindami šių ląstelių gebėjimą tiesiogiai sialilinti O-glikanus, kuriems trūksta galaktozės. Transkripcijos analizės atskleidžia ST6-GalNAcII, bet ne ST6-GalNAcI ekspresiją, patvirtindamos ST6-GalNAcII vaidmenį tarpinkaujant IgA1 šarnyrinės srities GalNAc $\alpha 2,6$ sialilinimui.

Be to, kad DAKIKI yra naudinga glikozilinimo tyrimuose, ji buvo įvertinta dėl jautrumo B ląstelių indukcijos veiksniams ir forbolio esteriams, kurie gali moduluoti imunoglobulino sekreciją tam tikrose žmogaus B ląstelių linijose. Nors DAKIKI nuolat išskiria IgA, ji buvo įtraukta į EBV transformuotų B ląstelių modelius, naudojamus imunoglobulino gamybos reguliavimo ir diferenciacijos būsenų tyrimams. Dėl stabilaus IgA1 sekrecijos profilio ir atkartojamo galaktozės trūkumo, $\alpha 2,6$ -sialilintų šarnyrinės srities glikanų gamybos, DAKIKI yra gerai apibūdinta in vitro sistema, skirta tirti IgA1 glikozilinimo mechanizmus, B ląstelių diferenciaciją ir su IgA susijusių sutrikimų molekulinę patogenezę.

Organism Žmogus

Tissue Periferinis kraujas

Synonyms DAKIKI, DAKIKI klonas 1

Charakteristikos

Age Nenustatyta

Gender Nenustatyta

Ethnicity Afrikos

Morphology limfoblastas

Cell type B ląstelė

DAKIKI ląstelės | 305928

Growth properties

Pakaba

Reguliavimo duomenys

Citation DAKIKI (Cytion katalogo numeris 305928)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3675

Biomolekuliniai duomenys

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**Dissociation Reagent** Nėra**Subculturing** Švelniai homogenizuokite kolboje esantį ląstelių suspensiją, pipetudami aukštyn ir žemyn, tada paimkite reprezentatyvią mėginį, kad nustatytumėte ląstelių tankį ml. Praskieskite suspensiją, kad pasiektumėte 1×10^5 ląstelių/ml koncentraciją šviežia kultūrinė terpė, ir padalinkite pakoreguotą suspensiją į naujas kolbas tolesniam auginimui.**Seeding density** $2-5 \times 10^5$ ląstelių/cm²**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo.

DAKIKI ląstelės | 305928

**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 švriu 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 $200 \times g$ greičiu 5 minutes, atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpe.
7. Atlikite procedūrą, aprašytą skyriuje "Atkūrimas po atšildymo"

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

**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 perkeltite 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 perkeltant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė