Product sheet

AKATA šūnas | 305510

Vispārīga informācija

Description	AKATA šūnu līnija, kas iegūta no Burkita limfomas, ir plaši izmantots modelis Epšteina-Barra vīrusa (EBV) latences un reaktivācijas izpētei. EBV ir visur izplatīts herpesvīruss, kas saistīts ar dažādiem vēža veidiem, tostarp Burkita limfomu, un parasti B šūnās izveido latentu infekciju. AKATA šūnās EBV saglabājas epizomālā stāvoklī ar I tipa latentuma programmu, ekspresējot ierobežotu vīrusa gēnu kopumu, piemēram, EBNA-1, EBER RNS un BamHI-A labās puses transkriptus (BART). Šī ierobežotā gēnu ekspresija ļauj vīrusam saglabāties saimniekorganismā, neuzsākot pilnu lītisko ciklu. Tomēr AKATA šūnās var sākties litiskā fāze, kurā vīruss aktīvi replicējas un ražo pēcnācējus. Šo reaktivāciju parasti izraisa virsmas imūnglobulīnu šķērssaites, kas padara AKATA šūnas par lielisku instrumentu EBV reaktivācijas dinamikas un vīrusa gēnu regulācijas izpētei. Pētījumos, kuros izmantota AKATA šūnu līnija, ir pētīta arī ķīmijterapeitisko līdzekļu ietekme uz EBV reaktivāciju. Piemēram, ir pierādīts, ka tādi medikamenti kā etopozīds un doksorubicīns ietekmē vīrusa latenci. Etopozīds izraisa AKATA šūnu apoptozi, bet reaktivē EBV mazāk efektīvi nekā doksorubicīns, kas veicina augstāku liktisko gēnu ekspresijas līmeni un vīrusa pēcnācēju veidošanos. Turklāt pētījumos, kuros izmantotas gēnu rediģēšanas metodes, piemēram, CRISPR/Cas9, ir pētīta epigenētisko regulatoru loma AKATA šūnās. Piemēram, histona metiltransferāzes EZH2 nokautēšana AKATA šūnās traucē latences uzturēšanu, samazinot histona H3K27 trimetilēšanu, kā rezultātā palielinās gan latento, gan liktisko EBV gēnu ekspresija, kā arī pastiprinās vīrusa replikācija un šūnu proliferācija. AKATA šūnām piemīt arī atšķirīgas fenotipiskās īpašības, kas atkarīgas no EBV klātbūtnes, piemēram, lielāka jutība pret apoptozi izraisošiem aģentiem un ar apoptozes ceļiem saistīto gēnu ekspresijas variācijas. Šīs atšķirības padara EBV pozitīvās AKATA šūnas par spēcīgu modeli, lai pētītu EBV ietekmi uz saimnieka šūnu izdzīvošanu, gēnu ekspresiju un vīrusa dzīves ciklu, jo īpaši saistībā ar vēža attīstību un iespējamām terapeitiskām intervencēm, kas vērstas pret EBV saistītiem ļaundabīgiem audzējiem.
Organism	Cilvēks
Tissue	Asinis
Disease	Burkita limfoma
Synonyms	Akata, Akata-BL, Akata BL, Akata-EC, Akata-Early Culture

Raksturojums

Age	4 gadi
Gender	Sievietes
Ethnicity	Japāņu
Morphology	Limfoblasts

Product sheet

AKATA šūnas | 305510

Cell type	B šūna
Growth properties	Apturēšana

Normatīvie dati

Citation	AKATA (Cytion kataloga numurs 305510)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0148

Biomolekulārie dati

Viruses	Transformants: EBV

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Subculturing	Savāc suspensijas šūnas 15 ml mēģenē un saudzīgi izmazgā pielipušās šūnas ar PBS bez kalcija un magnija (T25 kolbām izmanto 3-5 ml, bet T75 kolbām - 5-10 ml). Uzklājiet Accutase (1-2 ml T25 kolbām, 2,5 ml T75 kolbām), nodrošinot pilnīgu šūnu slāņa pārklājumu. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 10 minūtes. Pēc inkubācijas apvienot un centrifugēt gan suspensiju, gan pielipušās šūnas. Pēc centrifugēšanas uzmanīgi resuspendēt šūnu granulas un pārvietot šūnu suspensiju jaunās kolbās ar svaigu barotni.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

AKATA šūnas | 305510

Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus. 7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu. 8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

AKATA šūnas | 305510

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.