

DAKIKI šūnas | 305928

Vispārīga informācija

Description

DAKIKI ir cilvēka Epšteina-Barra vīrusa (EBV) pozitīva B-limfoblastoīdu šūnu līnija, kas ekspresē virsmas IgA1 un izdalī polimēru IgA1. Tā sākotnēji tika iegūta no pieauguša pacienta ar nazofaringeālo karcinomu perifērajiem limfocītiem un vēlāk izveidota kā nepārtraukti vairojošās suspensijas kultūra. Šīs šūnas uzrāda tipisku limfoblastoīdu morfoloģiju un aug RPMI bāzes barotnēs, kam pievienots serums. DAKIKI ir plaši izmantota kā cilvēka IgA1 ražojošo B šūnu modelis, jo īpaši pētījumos, kuros izpēta imūnglobulīnu sintēzi, sekrēcijas regulāciju un pēctraslācijas glikozilāciju.

Bioķīmiskās un lektīnu analīzes ir parādījušas, ka DAKIKI šūnu izdalītajā IgA1 šarnīra reģionā ir galaktozes deficīti O-saistīti glikāni. Monosaharīdu sastāva analīze un lektīna ELISA apstiprina terminālo vai α 2,6-sialilēto N-acetilgalaktozamīna (GalNAc) atlieku bagātinājumu, kas ir glikozilācijas anomāliju raksturojoša glikozforma, novērota IgA nefropātijā. Neuraminidāzes apstrāde ievērojami palielina Helix aspersa aglutinīna reaktivitāti, norādot uz sialilētu GalNAc struktūru klātbūtni. Funkcionālie testi, izmantojot Golgi bagātinātas frakcijas no DAKIKI šūnām, parāda CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1 α 2,6-sialiltransferāzes aktivitāti, apstiprinot šo šūnu spēju tieši sialilēt galaktozes deficītu O-glikānus. Transkripcijas analīzes atklāj ST6-GalNAcII, bet ne ST6-GalNAcI ekspresiju, kas apstiprina ST6-GalNAcII lomu IgA1 šarnīra reģiona GalNAc α 2,6 sialilācijas mediēšanā.

Papildus lietderībai glikozilācijas pētījumos, DAKIKI ir novērtēts attiecībā uz reaģētspēju uz B šūnu indukcijas faktoriem un forbolesteriem, kas var modulēt imūnglobulīnu sekrēciju noteiktās cilvēka B šūnu līnijās. Lai gan DAKIKI konstitutīvi sekrē IgA, tas ir iekļauts EBV transformēto B šūnu modeļu vidū, kurus izmanto imūnglobulīnu ražošanas regulācijas un diferenciācijas stāvokļu pētīšanai. Pateicoties stabilajam IgA1 sekrēcijas profilam un reproducējamai galaktozes deficītu, α 2,6-sialilētu šarnīra reģiona glikānu ražošanai, DAKIKI ir labi raksturota in vitro sistēma IgA1 glikozilācijas mehānismu, B šūnu diferenciācijas un ar IgA saistītu traucējumu molekulārās patogēzes izpētei.

Organism

Cilvēks

Tissue

Perifērās asinis

Synonyms

DAKIKI, DAKIKI klons 1

Raksturojums

Age

Nav norādīts

Gender

Nav norādīts

Ethnicity

Āfrikas

Morphology

limfoblasts

Cell type

B šūna

DAKIKI šūnas | 305928

Growth
properties

Apturēšana

Normatīvie dati

Citation DAKIKI (Cytion kataloga numurs 305928)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3675

Biomolekulārie dati

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**Dissociation Reagent** Neviens**Subculturing** Viegli homogenizējiet šūnu suspensiju kolbā, pipetējot uz augšu un uz leju, pēc tam ņemiet reprezentatīvu paraugu, lai noteiktu šūnu blīvumu uz ml. Atšķaidiet suspensiju, lai sasniegtu šūnu koncentrāciju 1×10^5 šūnas/ml ar svaigu kultūras barotni, un sadaliet pielāgoto suspensiju jaunās kolbās turpmākai kultivēšanai.**Seeding density** 2 līdz 5×10^5 šūnas/cm²**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.

DAKIKI šūnas | 305928

**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. Maisījumu centrifugē pie 200 x g 5 minūtes, virsgatavumu, kas satur sasaldēšanas barotni, uzmanīgi izmet.
7. Veikt procedūru, kas aprakstīta sadaļā "Atjaunošana pēc atkausēšanas"

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

**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 slāpekļī 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