Product sheet

AKATA-cellen | 305510

Algemene informatie

Description	De AKATA-cellijn, afgeleid van Burkitt-lymfoom, is een veelgebruikt model om de latentie en reactivatie van het Epstein-Barr-virus (EBV) te bestuderen. EBV is een alomtegenwoordig herpesvirus dat in verband wordt gebracht met een reeks kankers, waaronder Burkitt-lymfoom, en vestigt gewoonlijk een latente infectie in B-cellen. In AKATA-cellen wordt EBV gehandhaafd in een episomale toestand met een type I latentieprogramma, waarbij een beperkte set virale genen tot expressie komt, zoals EBNA-1, EBER RNA's en BamHI-A rightward transcripts (BART's). Door deze beperkte genexpressie kan het virus in de gastheer overleven zonder een volledige lytische cyclus te starten. AKATA-cellen kunnen echter getriggerd worden om de lytische fase in te gaan, waarin het virus actief repliceert en nakomelingen produceert. Deze reactivatie wordt gewoonlijk geïnduceerd door cross-linking van oppervlakte immunoglobulinen, waardoor AKATA cellen een uitstekend hulpmiddel zijn voor het bestuderen van EBV reactivatiedynamica en virale genregulatie. Onderzoek met de AKATA cellijn heeft ook de invloed van chemotherapeutische middelen op EBV reactivatie onderzocht. Er is bijvoorbeeld aangetoond dat geneesmiddelen zoals etoposide en doxorubicine de virale latentie beïnvloeden. Etoposide induceert apoptose in AKATA-cellen, maar reactiveert EBV minder effectief dan doxorubicine, dat hogere niveaus van lytische genexpressie en productie van virale nakomelingen bevordert. Daarnaast hebben studies met genbewerkingstechnieken, zoals CRISPR/Cas9, de rol van epigenetische regulatoren in AKATA-cellen onderzocht. Het uitschakelen van het histon-methyltransferase EZH2 in AKATA-cellen verstoort bijvoorbeeld het behoud van latentie door de trimethylering van histon H3K27 te verminderen, wat leidt tot verhoogde expressie van zowel latente als lytische EBV-genen, evenals verhoogde virale replicatie en celproliferatie. AKATA-cellen vertonen ook verschillende fenotypische kenmerken gebaseerd op de aanwezigheid van EBV, zoals een verhoogde gevoeligheid voor apoptose-inducerende middelen en variaties in genexpressie gerelateerd aan apoptotische routes. Deze verschillen maken EBV-positieve AKATA-cellen tot een krachtig model voor het ontleden van de invloed van EBV op het overleven van gastcellen, genexpressie en de levenscyclus van het virus, met name in de context van de ontwikkeling van kanker en mogelijke therapeutische interventies gericht op EBV-geassocieerde maligniteiten.
Organism	Mens
Tissue	Bloed
Disease	Burkitt lymfoom
Synonyms	Akata, Akata-BL, Akata BL, Akata-EC, Akata-Vroege Cultuur

Kenmerken

Age	4 jaar
Gender	Vrouw
Ethnicity	Japans

AKATA-cellen | 305510

Morphology	Lymfoblast
Cell type	B cel
Growth properties	Ophanging

Regelgevende gegevens

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

Biomoleculaire gegevens

Viruses	Transformant: EBV

Omgaan met

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
Subculturing	Verzamel de suspensiecellen in een buis van 15 ml en was de aanhangende cellen voorzichtig met PBS zonder calcium en magnesium (gebruik 3-5 ml voor T25-flesjes en 5-10 ml voor T75-flesjes). Breng Accutase aan (1-2 ml voor T25-flesjes, 2,5 ml voor T75-flesjes) en zorg dat de cellaag volledig bedekt wordt. Laat de cellen 10 minuten bij kamertemperatuur incuberen. Na de incubatie zowel de suspensie als de aanhangende cellen combineren en centrifugeren. Na het centrifugeren de celpellet voorzichtig resuspenderen en de celsuspensie overbrengen in nieuwe kolven met vers medium.
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

AKATA-cellen | 305510

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions	Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility	Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden. Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.