

DAKIKI-cellen | 305928

Algemene informatie

Description

DAKIKI is een menselijke Epstein-Barr-virus (EBV)-positieve B-lymfoblastoïde cellijn die IgA1 aan het celoppervlak tot expressie brengt en polymeer IgA1 afscheidt. Deze cellijn is oorspronkelijk afgeleid van perifere lymfocyten van een volwassen patiënt met nasofarynxcarcinoom en vervolgens opgezet als een continu prolifererende suspensiecultuur. De cellen vertonen een typische lymfoblastoïde morfologie en groeien in RPMI-gebaseerde media aangevuld met serum. DAKIKI wordt op grote schaal gebruikt als model voor menselijke IgA1-producerende B-cellen, met name voor studies naar de synthese van immunoglobulinen, de regulering van de secretie en posttranslationele glycosylatie.

Biochemische en op lectine gebaseerde analyses hebben aangetoond dat het door DAKIKI-cellen uitgescheiden IgA1 O-gekoppelde glycanen met een tekort aan galactose vertoont in het scharniergebied. Analyse van de monosaccharidesamenstelling en lectine-ELISA bevestigen de verrijking van terminale of α 2,6-gesialyleerde N-acetylgalactosamine (GalNAc)-residuen, een glycoform die kenmerkend is voor afwijkend geglycosyleerd IgA1 dat wordt waargenomen bij IgA-nefropathie. Behandeling met neuraminidase verhoogt de reactiviteit van Helix aspersa-agglutinine aanzienlijk, wat wijst op de aanwezigheid van gesialyleerde GalNAc-structuren. Functionele testen met Golgi-verrijkte fracties van DAKIKI-cellen tonen CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1 α 2,6-sialyltransferase-activiteit aan, wat het vermogen van deze cellen bevestigt om Gal-deficiënte O-glycanen direct te sialyleren. Transcriptieanalyses tonen de expressie van ST6-GalNAcII aan, maar niet die van ST6-GalNAcI, wat de rol van ST6-GalNAcII bij het mediëren van α 2,6-sialylatie van GalNAc in het scharniergebied van IgA1 ondersteunt.

Naast het nut ervan in glycosylatieonderzoek is DAKIKI geëvalueerd op de responsiviteit op B-cel-inducerende factoren en forbolesters, die de immunoglobulinesecretie in bepaalde menselijke B-cellijnen kunnen moduleren. Hoewel DAKIKI constitutief IgA afscheidt, is het opgenomen in EBV-getransformeerde B-celmodellen die worden gebruikt om de regulatie van de immunoglobulineproductie en differentiatiestadia te bestuderen. Dankzij het stabiele IgA1-secretieprofiel en de reproduceerbare productie van galactose-deficiënte, α 2,6-gesialyleerde glycanen in het scharniergebied, vertegenwoordigt DAKIKI een goed gekarakteriseerd in-vitrosysteem voor het onderzoeken van mechanismen van IgA1-glycosylatie, B-celdifferentiatie en de moleculaire pathogenese van IgA-gerelateerde aandoeningen.

Organism

Mens

Tissue

Perifeer bloed

Synonyms

DAKIKI, DAKIKI-kloon 1

Kenmerken

Age

Ongespecificeerd

Gender

Ongespecificeerd

Ethnicity

Afrikaans

Morphology

lymfoblast

DAKIKI-cellen | 305928

Cell type B-cel**Growth properties** Ophanging

Regelgevende gegevens

Citation DAKIKI (Cytion-catalogusnummer 305928)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3675

Biomoleculaire gegevens

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**Dissociation Reagent** Geen**Subculturing** Homogeniseer de celsuspensie in de kolf voorzichtig door op en neer te pipetteren en neem vervolgens een representatief monster om de celdichtheid per ml te bepalen. Verdun de suspensie tot een celconcentratie van 1×10^5 cellen/ml met vers kweekmedium en verdeel de aangepaste suspensie in nieuwe kolven voor verdere kweek.**Seeding density** 2 tot 5×10^5 cellen/cm²**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien.

DAKIKI-cellen | 305928

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 de gedesinfecteerde flacon voorzichtig 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 5 minuten bij $200 \times g$ en gooi het supernatant met vriesmedium voorzichtig weg.
7. Volg de procedure beschreven onder Herstel na ontdooien

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

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