

AKATA-celler | 305510

Generell informasjon

Description

AKATA-cellelinjen, som stammer fra Burkitts lymfom, er en mye brukt modell for å studere latens og reaktivering av Epstein-Barr-virus (EBV). EBV er et allestedsnærværende herpesvirus som er knyttet til en rekke kreftformer, inkludert Burkitt-lymfom, og som vanligvis etablerer en latent infeksjon i B-celler. I AKATA-celler opprettholdes EBV i en episomal tilstand med et type I-latensprogram, som uttrykker et begrenset sett med virale gener som EBNA-1, EBER RNA og BamHI-A rightward transcripts (BART). Dette begrensede genuttrykket gjør at viruset kan vedvare i verten uten å starte en fullstendig lytisk syklus. AKATA-celler kan imidlertid trigges til å gå inn i den lytiske fasen, der viruset replikerer aktivt og produserer avkom. Denne reaktiveringen induseres vanligvis gjennom kryssbinding av overflateimmunglobuliner, noe som gjør AKATA-celler til et utmerket verktøy for å studere EBV-reaktiveringsdynamikk og viral genregulering.

Forskning som benytter AKATA-cellelinjen, har også undersøkt effekten av kjemoterapeutiske midler på EBV-reaktivering. For eksempel har legemidler som etoposid og doksorubicin vist seg å påvirke den virale latenstiden. Etoposid induserer apoptose i AKATA-celler, men reaktiverer EBV mindre effektivt enn doksorubicin, som fremmer høyere nivåer av lytisk genuttrykk og produksjon av viralt avkom. I tillegg har studier som involverer genredigeringsteknikker, som CRISPR/Cas9, utforsket rollen til epigenetiske regulatorer i AKATA-celler. For eksempel forstyrrer knockout av histonmetyltransferasen EZH2 i AKATA-celler opprettholdelsen av latens ved å redusere trimetyleringen av histon H3K27, noe som fører til økt uttrykk av både latente og lytiske EBV-gener, samt økt virusreplikasjon og celleproliferasjon.

AKATA-celler viser også distinkte fenotypiske egenskaper basert på EBV-tilstedeværelse, som økt følsomhet for apoptoseinduserende midler og variasjoner i genuttrykk relatert til apoptoseveier. Disse forskjellene gjør EBV-positive AKATA-celler til en god modell for å dissekere EBVs innflytelse på vertscellens overlevelse, genuttrykk og virusets livssyklus, særlig i forbindelse med kreftutvikling og potensielle terapeutiske intervensjoner rettet mot EBV-assosierte maligne sykdommer.

Organism Menneskelig

Tissue Blod

Disease Burkitt-lymfom

Synonyms Akata, Akata-BL, Akata BL, Akata-EC, Akata-Early Culture

Kjennetegn

Age 4 år

Gender Kvinne

Ethnicity Japansk

Morphology Lymfoblast

AKATA-celler | 305510

Cell type B-celle**Growth properties** Oppheng**Regulatoriske data****Citation** AKATA (Cytion-katalognummer 305510)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0148**Biomolekylære data****Viruses** Transformant: EBV**Håndtering****Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Subculturing** Samle suspensjonscellene i et 15 ml rør, og vask de adherente cellene forsiktig med PBS uten kalsium og magnesium (bruk 3-5 ml for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber). Påfør Accutase (1-2 ml for T25-kolber, 2,5 ml for T75-kolber) og sørg for full dekning av cellelaget. La cellene inkubere i romtemperatur i 10 minutter. Etter inkubasjon kombineres og sentrifugeres både suspensjonen og de adherente cellene. Etter sentrifugering resuspenderes cellepelletten forsiktig, og cellesuspensjonen overføres til nye kolber som inneholder nytt medium.**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobybeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

AKATA-celler | 305510

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkningsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

**Freezing
Procedure**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Shipping
Conditions**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

AKATA-celler | 305510

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.