Product sheet

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 knyttet 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 cellepelleten 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 opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

AKATA-celler | 305510

Thawing and Culturing Cells	1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst 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 °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 °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 dyrkingsmedium, og bland forsiktig. 6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig. 7. Resuspender cellepelleten 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 °C, 5 % $_{CO2}$, 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 °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 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

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 og molekylær analyse

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.