

DAKIKI-celler | 305928

Generell informasjon

Description

DAKIKI er en B-lymfoblastoid cellelinje fra mennesker som er positiv for Epstein-Barr-virus (EBV), og som uttrykker overflate-IgA1 og utskiller polymert IgA1. Den ble opprinnelig isolert fra perifere lymfocytter fra en voksen pasient med nasofaryngealt karsinom, og deretter etablert som en kontinuerlig prolifererende suspensjonskultur. Cellene viser typisk lymfoblastoid morfologi og vokser i RPMI-baserte medier tilsatt serum. DAKIKI har blitt mye brukt som en modell for humane IgA1-produserende B-celler, særlig for studier som undersøker immunoglobulinsyntese, regulering av sekresjon og posttranslasjonell glykosylering.

Biokjemiske og lektinbaserte analyser har vist at IgA1 som skilles ut av DAKIKI-celler, har galaktosemangel i O-koblede glykaner i hengselregionen. Analyse av monosakkaridsammensetningen og lektin-ELISA bekrefter anrikning av terminale eller α 2,6-sialylerte N-acetylgalaktosamin (GalNAc)-rester, en glykoform som er karakteristisk for unormalt glykosylert IgA1 observert ved IgA-nefropati. Behandling med neuraminidase øker reaktiviteten til Helix aspersa-agglutinin markant, noe som indikerer tilstedeværelsen av sialylerte GalNAc-strukturer. Funksjonelle analyser ved bruk av Golgi-berikede fraksjoner fra DAKIKI-celler viser CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1 α 2,6-sialyltransferaseaktivitet, noe som bekrefter disse cellenes evne til å sialylere Gal-mangelfulle O-glykaner direkte. Transkripsjonsanalyser avslører uttrykk for ST6-GalNAcII, men ikke ST6-GalNAcI, noe som støtter rollen til ST6-GalNAcII i å formidle α 2,6-sialylering av GalNAc i hengselregionen i IgA1.

I tillegg til sin nytte i glykosyleringsforskning, har DAKIKI blitt evaluert for respons på B-celleinduserende faktorer og forbolester, som kan modulere immunoglobulinsekresjon i visse humane B-cellelinjer. Selv om DAKIKI konstant sekreterer IgA, har den blitt inkludert blant EBV-transformerte B-celle-modeller som brukes til å studere regulering av immunoglobulinproduksjon og differensieringsstadier. På grunn av sitt stabile IgA1-sekresjonsprofil og reproduserbare produksjon av galaktose-mangelfulle, α 2,6-sialylerte glykaner i hengselregionen, representerer DAKIKI et godt karakterisert in vitro-system for å undersøke mekanismer for IgA1-glykosylering, B-celledifferensiering og den molekylære patogenesen av IgA-assosierte lidelser.

Organism

Menneskelig

Tissue

Perifert blod

Synonyms

DAKIKI, DAKIKI-klone 1

Kjennetegn

Age

Uspesifisert

Gender

Uspesifisert

Ethnicity

Afrikansk

Morphology

lymfoblast

Cell type

B-celle

DAKIKI-celler | 305928

Growth
properties

Oppheng

Regulatoriske data

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

Biomolekylære data

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**Dissociation Reagent** Ingen**Subculturing** Homogeniser celleduspensjonen i kolben forsiktig ved å pipettere opp og ned, og ta deretter en representativ prøve for å bestemme celledettheten per ml. Fortynn suspensjonen til en celledensitasjon på 1×10^5 celler/ml med ferskt dyrkningsmedium, og fordel den justerte suspensjonen i nye kolber for videre dyrking.**Seeding density** 2 til 5×10^5 cell^{er}/cm²**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium + 10 % DMSO for å sikre tilstrekkelig levedyktighet etter optining.

DAKIKI-celler | 305928

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°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 $200 \times g$ i 5 minutter, og kast supernatanten som inneholder frysemedium, forsiktig.
7. Følg prosedyren som er beskrevet under Post-Thaw Recovery

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellerlinjer 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