Product sheet

Komórki AKATA | 305510

Informacje ogólne

Description	Linia komórkowa AKATA, pochodząca z chłoniaka Burkitta, jest szeroko stosowanym modelem do badania latencji i reaktywacji wirusa Epsteina-Barra (EBV). EBV jest wszechobecnym herpeswirusem powiązanym z szeregiem nowotworów, w tym chłoniakiem Burkitta, i zazwyczaj tworzy utajoną infekcję w komórkach B. W komórkach AKATA EBV jest utrzymywany w stanie episomalnym z programem latencji typu I, wyrażając ograniczony zestaw genów wirusowych, takich jak EBNA-1, EBER RNA i transkrypty BamHI-A rightward (BART). Ta ograniczona ekspresja genów pozwala wirusowi przetrwać w gospodarzu bez inicjowania pełnego cyklu litycznego. Komórki AKATA mogą jednak zostać pobudzone do wejścia w fazę lityczną, w której wirus aktywnie replikuje się i produkuje potomstwo. Ta reaktywacja jest zwykle indukowana przez sieciowanie immunoglobulin powierzchniowych, co czyni komórki AKATA doskonałym narzędziem do badania dynamiki reaktywacji EBV i regulacji genów wirusowych. Badania wykorzystujące linię komórkową AKATA zbadały również wpływ środków chemioterapeutycznych na reaktywację EBV. Na przykład wykazano, że leki takie jak etopozyd i doksorubicyna wpływają na latencję wirusa. Etopozyd indukuje apoptozę w komórkach AKATA, ale reaktywuje EBV mniej skutecznie niż doksorubicyna, która promuje wyższy poziom ekspresji genów litycznych i produkcji potomstwa wirusa. Dodatkowo, badania obejmujące techniki edycji genów, takie jak CRISPR/Cas9, zbadały rolę regulatorów epigenetycznych w komórkach AKATA. Na przykład, nokaut metylotransferazy histonowej EZH2 w komórkach AKATA zakłóca utrzymanie latencji poprzez zmniejszenie trimetylacji histonu H3K27, prowadząc do zwiększonej ekspresji zarówno utajonych, jak i litycznych genów EBV, a także zwiększonej replikacji wirusa i proliferacji komórek. Komórki AKATA wykazują również odmienne cechy fenotypowe w zależności od obecności EBV, takie jak zwiększona wrażliwość na czynniki indukujące apoptozę i zmiany w ekspresji genów związanych ze szlakami apoptotycznymi. Różnice te sprawiają, że EBV-dodatnie komórki AKATA są potężnym modelem do badania wpływu EBV na przeżycie komórek gospodarza, ekspresję genów i cykl życia wirusa, szczególnie w kontekście rozwoju raka i potencjalnych interwencji terapeutycznych ukierunkowanych na nowotwory złośliwe związane z EBV.
Organism	Człowiek
Tissue	Krew
Disease	Chłoniak Burkitta
Synonyms	Akata, Akata-BL, Akata BL, Akata-EC, Akata-Early Culture

Charakterystyka

Age	4 lata
Gender	Kobieta
Ethnicity	Japoński

Komórki AKATA | 305510

Morphology	Limfoblast
Cell type	Komórka B
Growth properties	Zawieszenie

Dane regulacyjne

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

Dane biomolekularne

Viruses	Transformant: EBV

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO3 (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Subculturing	Zebrać komórki zawiesiny do probówki o pojemności 15 ml i delikatnie przemyć przylegające komórki PBS pozbawionym wapnia i magnezu (użyć 3-5 ml dla kolb T25 i 5-10 ml dla kolb T75). Nałożyć Accutase (1-2 ml na kolby T25, 2,5 ml na kolby T75), zapewniając pełne pokrycie warstwy komórek. Pozostawić komórki do inkubacji w temperaturze pokojowej przez 10 minut. Po inkubacji połączyć i odwirować zarówno zawiesinę, jak i przylegające komórki. Po odwirowaniu ostrożnie zawiesić osad komórek i przenieść zawiesinę komórek do nowych kolb zawierających świeżą pożywkę.
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki AKATA | 305510

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki AKATA | 305510

Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.