

Komórki DAKIKI | 305928

Informacje ogólne

Description

DAKIKI to ludzka linia komórek limfoblastoidalnych B, dodatnia pod względem wirusa Epsteina-Barra (EBV), która wykazuje ekspresję powierzchniowego IgA1 i wydziela polimeryczne IgA1. Została ona pierwotnie wyhodowana z limfocytów obwodowych dorosłego pacjenta z rakiem nosogardzieli, a następnie ustanowiona jako nieustannie namnażająca się hodowla zawieszinowa. Komórki wykazują typową morfologię limfoblastyczną i rosną w pożywkach na bazie RPMI uzupełnionych surowicą. DAKIKI jest szeroko stosowana jako model ludzkich komórek B produkujących IgA1, szczególnie w badaniach dotyczących syntezy immunoglobulin, regulacji wydzielania i glikozylacji potranslacyjnej.

Analizy biochemiczne i oparte na lektynach wykazały, że IgA1 wydzielane przez komórki DAKIKI wykazuje glikany O-połączone z niedoborem galaktozy w regionie zawiasowym. Analiza składu monosacharydów oraz test ELISA z użyciem lektyn potwierdzają wzbogacenie końcowych lub α 2,6-sializowanych reszt N-acetylogalaktozamin (GalNAc) – glikoformy charakterystycznej dla nieprawidłowo glikozylowanej IgA1 obserwowanej w nefropatii IgA. Traktowanie neuraminidazą znacznie zwiększa reaktywność aglutyniny Helix aspersa, co wskazuje na obecność sializowanych struktur GalNAc. Testy funkcjonalne z wykorzystaniem frakcji wzbogaconych w kompleks Golgiego z komórek DAKIKI wykazują aktywność α 2,6-sialylotransferazy CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1, potwierdzając zdolność tych komórek do bezpośredniej sializacji glikanów O-połączonych pozbawionych galaktozy. Analizy transkrypcyjne ujawniają ekspresję ST6-GalNAcII, ale nie ST6-GalNAcI, co potwierdza rolę ST6-GalNAcII w pośredniczeniu w sializacji α 2,6 GalNAc w regionie zawiasowym IgA1.

Oprócz przydatności w badaniach nad glikozylacją, komórki DAKIKI zostały ocenione pod kątem reaktywności na czynniki indukujące komórki B oraz estry forbolowe, które mogą modulować wydzielanie immunoglobulin w niektórych ludzkich liniach komórek B. Chociaż komórki DAKIKI wydzielają IgA w sposób konstytutywny, zostały one włączone do modeli komórek B transformowanych wirusem EBV, wykorzystywanych do badania regulacji produkcji immunoglobulin i stanów różnicowania. Ze względu na stabilny profil wydzielania IgA1 i powtarzalną produkcję glikanów w regionie zawiasowym, pozbawionych galaktozy i sializowanych w pozycji α 2,6, DAKIKI stanowi dobrze scharakteryzowany system in vitro do badania mechanizmów glikozylacji IgA1, różnicowania komórek B oraz molekularnej patogenezы zaburzeń związanych z IgA.

Organism

Człowiek

Tissue

Krew obwodowa

Synonyms

DAKIKI, DAKIKI – klon 1

Charakterystyka

Age

Nieokreślony

Gender

Nieokreślony

Ethnicity

Afrykański

Morphology

limfoblast

Komórki DAKIKI | 305928**Cell type** komórka B**Growth properties** Zawieszenie**Dane regulacyjne****Citation** DAKIKI (numer katalogowy Cytion 305928)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3675**Dane biomolekularne****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**Dissociation Reagent** Brak**Subculturing** Delikatnie homogenizować zawiesinę komórek w kolbie, pipetując w górę i w dół, a następnie pobrać reprezentatywną próbkę w celu określenia gęstości komórek na ml. Rozcieńczyć zawiesinę świeżym podłożem hodowlanym, aby uzyskać stężenie komórek wynoszące 1×10^5 komórek/ml, a następnie podzielić dostosowaną zawiesinę na porcje w nowych kolbach w celu dalszej hodowli.**Seeding density** od 2 do 5×10^5 komórek/cm²**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.

Komórki DAKIKI | 305928**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 przepływowej, 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 $200 \times g$ przez 5 minut, ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pożywkę do zamrażania.
7. Postępować zgodnie z procedurą opisaną w sekcji Odzyskiwanie po rozmrożeniu

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

**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