

**Células AKATA | 305510****Informações gerais****Description**

A linha celular AKATA, derivada do linfoma de Burkitt, é um modelo amplamente utilizado para estudar a latência e a reativação do vírus Epstein-Barr (EBV). O EBV é um herpesvírus ubíquo ligado a uma série de cânceros, incluindo o linfoma de Burkitt, e estabelece normalmente uma infecção latente nas células B. Nas células AKATA, o EBV é mantido num estado episómal com um programa de latência do tipo I, expressando um conjunto limitado de genes virais, como o EBNA-1, os RNAs EBER e os transcritos BamHI-A para a direita (BARTs). Esta expressão genética restrita permite que o vírus persista no hospedeiro sem iniciar um ciclo lítico completo. No entanto, as células AKATA podem ser activadas para entrar na fase lítica, em que o vírus se replica ativamente e produz descendentes. Esta reativação é normalmente induzida através da ligação cruzada de imunoglobulinas de superfície, o que faz das células AKATA uma excelente ferramenta para estudar a dinâmica da reativação do EBV e a regulação dos genes virais.

A investigação que utiliza a linha celular AKATA também examinou o impacto dos agentes quimioterapêuticos na reativação do EBV. Por exemplo, foi demonstrado que fármacos como o etoposido e a doxorrubicina influenciam a latência viral. O etoposido induz a apoptose nas células AKATA, mas reactiva o EBV de forma menos eficaz do que a doxorrubicina, que promove níveis mais elevados de expressão de genes líticos e de produção de descendentes virais. Além disso, estudos envolvendo técnicas de edição de genes, como CRISPR/Cas9, exploraram o papel dos reguladores epigenéticos nas células AKATA. Por exemplo, a eliminação da histona metiltransferase EZH2 nas células AKATA perturba a manutenção da latência, reduzindo a trimetilação da histona H3K27, o que leva a um aumento da expressão dos genes latentes e líticos do EBV, bem como a uma maior replicação viral e proliferação celular.

As células AKATA também apresentam características fenotípicas distintas com base na presença do EBV, tais como uma maior sensibilidade a agentes indutores de apoptose e variações na expressão de genes relacionados com as vias apoptóticas. Estas diferenças fazem das células AKATA EBV-positivas um modelo poderoso para dissecar a influência do EBV na sobrevivência das células hospedeiras, na expressão genética e no ciclo de vida do vírus, particularmente no contexto do desenvolvimento do cancro e de potenciais intervenções terapêuticas dirigidas a doenças malignas associadas ao EBV.

**Organism** Humano**Tissue** Sangue**Disease** Linfoma de Burkitt**Synonyms** Akata, Akata-BL, Akata BL, Akata-EC, Akata-Early Culture**Caraterísticas****Age** 4 anos**Gender** Feminino**Ethnicity** Japonês

**Células AKATA | 305510****Morphology** Linfoblasto**Cell type** Célula B**Growth properties** Suspensão**Dados regulamentares****Citation** AKATA (número de catálogo Cytion 305510)**Biosafety level** 2**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0148**Dados biomoleculares****Viruses** Transformante: EBV**Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Subculturing** Reunir as células em suspensão num tubo de 15 ml e lavar suavemente as células aderentes com PBS sem cálcio e magnésio (utilizar 3-5 ml para os frascos T25 e 5-10 ml para os frascos T75). Aplicar Accutase (1-2 ml para os frascos T25, 2,5 ml para os frascos T75), assegurando a cobertura total da camada celular. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 10 minutos. Após a incubação, combinar e centrifugar tanto a suspensão como as células aderentes. Após a centrifugação, ressuspender cuidadosamente o pellet de células e transferir a suspensão de células para novos frascos com meio fresco.**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## Células AKATA | 305510

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células AKATA | 305510

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.