

Células DAKIKI | 305928

Informações gerais

Description

A DAKIKI é uma linha celular linfoblastoide B humana positiva para o vírus de Epstein-Barr (EBV) que expressa IgA1 de superfície e secreta IgA1 polimérica. Foi originalmente derivada de linfócitos periféricos de um doente adulto com carcinoma nasofaríngeo e, posteriormente, estabelecida como uma cultura em suspensão de proliferação contínua. As células apresentam morfologia linfoblastoide típica e crescem em meios à base de RPMI suplementados com soro. A DAKIKI tem sido amplamente utilizada como modelo de células B produtoras de IgA1 humana, particularmente para estudos que investigam a síntese de imunoglobulinas, a regulação da secreção e a glicosilação pós-traducional.

Análises bioquímicas e baseadas em lectinas demonstraram que a IgA1 secretada pelas células DAKIKI apresenta glicanos O-ligados com deficiência de galactose na região da articulação. A análise da composição de monossacarídeos e o ELISA com lectinas confirmam o enriquecimento de resíduos terminais ou de N-acetilgalactosamina (GalNAc) α 2,6-sialilada, uma glicoforma característica da IgA1 glicosilada de forma anômala observada na nefropatia por IgA. O tratamento com neuraminidase aumenta significativamente a reatividade da aglutinina Helix aspersa, indicando a presença de estruturas de GalNAc sialiladas. Ensaio funcionais utilizando frações enriquecidas em Golgi de células DAKIKI demonstram atividade da CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1 α 2,6-sialiltransferase, confirmando a capacidade destas células de sialilar diretamente glicanos O-ligados deficientes em galactose. Análises transcricionais revelam a expressão de ST6-GalNAcII, mas não de ST6-GalNAcI, apoiando o papel de ST6-GalNAcII na mediação da sialilação α 2,6 do GalNAc da região de articulação na IgA1.

Para além da sua utilidade na investigação sobre glicosilação, o DAKIKI foi avaliado quanto à sua capacidade de resposta a fatores indutores de células B e ésteres de forbol, que podem modular a secreção de imunoglobulinas em determinadas linhas de células B humanas. Embora o DAKIKI secreta IgA de forma constitutiva, foi incluído entre os modelos de células B transformadas pelo EBV utilizados para estudar a regulação da produção de imunoglobulinas e os estados de diferenciação. Devido ao seu perfil de secreção estável de IgA1 e à produção reprodutível de glicanos da região de articulação, deficientes em galactose e α 2,6-sialilados, o DAKIKI representa um sistema in vitro bem caracterizado para investigar os mecanismos de glicosilação da IgA1, a diferenciação das células B e a patogénese molecular das doenças associadas à IgA.

Organism

Humano

Tissue

Sangue periférico

Synonyms

DAKIKI, Clone 1 do DAKIKI

Caraterísticas

Age

Não especificado

Gender

Não especificado

Ethnicity

Africano

Morphology

linfoblasto

Células DAKIKI | 305928**Cell type** célula B**Growth properties** Suspensão**Dados regulamentares****Citation** DAKIKI (número de catálogo Cytion 305928)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3675**Dados biomoleculares****Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Nenhum**Subculturing** Homogeneize suavemente a suspensão celular no frasco pipetando para cima e para baixo e, em seguida, recolha uma amostra representativa para determinar a densidade celular por ml. Dilua a suspensão para atingir uma concentração celular de 1×10^5 células/ml com meio de cultura fresco e alique a suspensão ajustada em novos frascos para cultivo adicional.**Seeding density** $2 \text{ a } 5 \times 10^5 \text{ células/cm}^2$ **Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo + 10% de DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada.

Células DAKIKI | 305928

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°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°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, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado 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 $200 \times g$ durante 5 minutos e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação.
7. Seguir o procedimento descrito em Recuperação pós-descongelamento

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

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 e Análise Molecular