Product sheet

Celule AKATA | 305510

Informații generale

Description	Linia celulară AKATA, derivată din limfomul Burkitt, este un model utilizat pe scară largă pentru a studia latența și reactivarea virusului Epstein-Barr (EBV). EBV este un herpesvirus omniprezent legat de o serie de cancere, inclusiv de limfomul Burkitt, și stabilește de obicei o infecție latentă în celulele B. În celulele AKATA, EBV este menținut într-o stare episomală cu un program de latență de tip I, exprimând un set limitat de gene virale, cum ar fi EBNA-1, ARN-urile EBER și transcriptele BamHI-A rightward (BART). Această exprimare limitată a genelor permite virusului să persiste în gazdă fără să inițieze un ciclu litar complet. Cu toate acestea, celulele AKATA pot fi declanșate pentru a intra în faza litică, în care virusul se replică activ și produce progenituri. Această reactivare este de obicei indusă prin reticularea imunoglobulinelor de suprafață, ceea ce face din celulele AKATA un instrument excelent pentru studierea dinamicii reactivării EBV și a reglării genelor virale. Cercetările care utilizează linia celulară AKATA au examinat, de asemenea, impactul agenților chimioterapeutici asupra reactivării EBV. De exemplu, s-a demonstrat că medicamente precum etoposida și doxorubicina influențează latența virală. Etoposida induce apoptoza în celulele AKATA, dar reactivează EBV mai puțin eficient decât doxorubicina, care promovează niveluri mai ridicate de expresie genică lită și de producție de progenie virală. În plus, studiile care implică tehnici de editare a genelor, cum ar fi CRISPR/Cas9, au explorat rolul regulatorilor epigenetici în celulele AKATA. De exemplu, knockout-ul metiltransferazei histonice EZH2 în celulele AKATA perturbă menținerea latenței prin reducerea trimetilării histonei H3K27, ceea ce duce la creșterea expresiei genelor EBV latente și litice, precum și la creșterea replicării virale și a proliferării celulare. De asemenea, celulele AKATA prezintă caracteristici fenotipice distincte în funcție de prezența EBV, cum ar fi sensibilitatea crescută la agenții care induc apoptoza și variații ale expresiei genelor legate de căile apoptotice. Aceste diferențe fac din celulele AKATA EBV-pozitive un model puternic pentru disecarea influenței EBV asupra supraviețuirii celulelor gazdă, a expresiei genelor și a ciclului de viață al virusului, în special în contextul dezvoltării cancerului și al intervențiilor terapeutice potențiale care vizează afecțiunile maligne asociate EBV.
Organism	Om
Tissue	Sânge
Disease	Limfomul Burkitt
Synonyms	Akata, Akata-BL, Akata BL, Akata-EC, Akata-Cultură timpurie

Caracteristici

Age	4 ani
Gender	Femei
Ethnicity	Japoneză
Morphology	Limfoblast

Product sheet

Celule AKATA | 305510

Cell type	Celula B
Growth properties	Suspensie

Date de reglementare

Citation	AKATA (numărul de catalog Cytion 305510)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0148

Date biomoleculare

Viruses	Transformant: EBV

Manipulare

Culture Medium	RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO3 (număr articol Cytion 820700a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
Subculturing	Se adună celulele în suspensie într-un tub de 15 ml și se spală ușor celulele aderente cu PBS lipsit de calciu și magneziu (se utilizează 3-5 ml pentru flacoane T25 și 5-10 ml pentru flacoane T75). Se aplică Accutase (1-2 ml pentru flacoane T25, 2,5 ml pentru flacoane T75) asigurând acoperirea completă a stratului celular. Se lasă celulele să se incubeze la temperatura camerei timp de 10 minute. După incubare, se combină și se centrifughează atât suspensia, cât și celulele aderente. După centrifugare, resuspendați cu atenție peletul celular și transferați suspensia celulară în flacoane noi care conțin mediu proaspăt.
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule AKATA | 305510

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions	Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Sterility	Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență. Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.