

Celule DAKIKI | 305928

Informații generale

Description

DAKIKI este o linie celulară limfoblastoidă B pozitivă la virusul Epstein-Barr (EBV) uman, care exprimă IgA1 de suprafață și secretă IgA1 polimerică. Aceasta a fost inițial derivată din limfocitele periferice ale unui pacient adult cu carcinom nazofaringian și, ulterior, a fost stabilită ca o cultură în suspensie cu proliferare continuă. Celulele prezintă morfologia tipică a limfoblastoidelor și cresc în medii pe bază de RPMI suplimentate cu ser. DAKIKI a fost utilizată pe scară largă ca model de celule B producătoare de IgA1 umană, în special pentru studii care investighează sinteza imunoglobulinelor, reglarea secreției și glicozilarea post-translațională.

Analizele biochimice și cele bazate pe lectină au demonstrat că IgA1 secretată de celulele DAKIKI prezintă glicani O-legați cu deficit de galactoză în regiunea articulației. Analiza compoziției monozaharidelor și testul ELISA cu lectină confirmă îmbogățirea cu reziduuri terminale sau α 2,6-sialilate de N-acetilgalactozamină (GalNAc), o glicoformă caracteristică IgA1 glicozilată aberant, observată în nefropatia IgA. Tratamentul cu neuraminidază crește semnificativ reactivitatea aglutininei Helix aspersa, indicând prezența structurilor GalNAc sialilate. Testele funcționale care utilizează fracțiuni îmbogățite cu Golgi din celulele DAKIKI demonstrează activitatea CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1 α 2,6-sialiltransferază, confirmând capacitatea acestor celule de a sialila direct glicani O-lipați de galactoză. Analizele transcripționale relevă expresia ST6-GalNAcII, dar nu și a ST6-GalNAcI, susținând rolul ST6-GalNAcII în medierea sialilării α 2,6 a GalNAc din regiunea de articulație a IgA1.

Pe lângă utilitatea sa în cercetarea glicozilării, DAKIKI a fost evaluat pentru reactivitatea la factorii de inducere a celulelor B și la esterii de forbol, care pot modula secreția de imunoglobuline în anumite linii celulare B umane. Deși DAKIKI secretă IgA în mod constitutiv, acesta a fost inclus printre modelele de celule B transformate de EBV utilizate pentru a studia reglarea producției de imunoglobuline și stările de diferențiere. Datorită profilului său stabil de secreție de IgA1 și producției reproductibile de glicani cu regiune de articulație α 2,6-sialilați, cu deficit de galactoză, DAKIKI reprezintă un sistem in vitro bine caracterizat pentru investigarea mecanismelor de glicozilare a IgA1, diferențierea celulelor B și patogeniza moleculară a tulburărilor asociate cu IgA.

Organism

Om

Tissue

Sânge periferic

Synonyms

DAKIKI, Clona DAKIKI 1

Caracteristici

Age

Nespecificat

Gender

Nespecificat

Ethnicity

African

Morphology

limfoblast

Cell type

celulă B

Celule DAKIKI | 305928

Growth properties

Suspensie

Date de reglementare

Citation DAKIKI (număr de catalog Cytion 305928)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3675

Date biomoleculare

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**Dissociation Reagent** Niciuna**Subculturing** Omogenizați ușor suspensia celulară din balon prin pipetare în sus și în jos, apoi prelevați o probă reprezentativă pentru a determina densitatea celulară pe ml. Diluați suspensia pentru a obține o concentrație celulară de 1×10^5 celule/ml cu mediu de cultură proaspăt și distribuiți suspensia ajustată în baloane noi pentru cultivare ulterioară.**Seeding density** $2-5 \times 10^5 \text{ cel}^{\text{ule}}/\text{cm}^2$ **Fluid renewal** de 2 până la 3 ori pe săptămână**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare.

Celule DAKIKI | 305928

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 200 x g timp de 5 minute, se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare.
7. Se urmează procedura descrisă la secțiunea Recuperare după decongelare

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

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