Product sheet

AKATA-celler | 305510

Allmän information

Description	AKATA-cellinjen, som härrör från Burkitts lymfom, är en ofta använd modell för att studera latens och reaktivering av Epstein-Barr-virus (EBV). EBV är ett allmänt förekommande herpesvirus som är kopplat till en rad olika cancerformer, däribland Burkitts lymfom, och som vanligtvis etablerar en latent infektion i B-celler. I AKATA-celler upprätthålls EBV i ett episomalt tillstånd med ett latensprogram av typ I, som uttrycker en begränsad uppsättning virusgener som EBNA-1, EBER-RNA och BamHI-A rightward transcripts (BART). Detta begränsade genuttryck gör att viruset kan leva kvar i värden utan att initiera en fullständig lytisk cykel. AKATA-celler kan dock aktiveras så att de går in i den lytiska fasen, där viruset aktivt replikerar och producerar avkomma. Denna reaktivering induceras vanligen genom korsbindning av ytimmunoglobuliner, vilket gör AKATA-celler till ett utmärkt verktyg för att studera EBV-reaktiveringsdynamik och viral genreglering. I forskning med AKATA-cellinjen har man också undersökt hur kemoterapeutiska medel påverkar reaktiveringen av EBV. Exempelvis har läkemedel som etoposid och doxorubicin visat sig påverka den virala latensen. Etoposid framkallar apoptos i AKATA-celler men reaktiverar EBV mindre effektivt än doxorubicin, som främjar högre nivåer av lytiskt genuttryck och produktion av virala progenier. Dessutom har studier som involverar genredigeringstekniker, såsom CRISPR/Cas9, utforskat de epigenetiska regulatorernas roll i AKATA-celler. Till exempel stör knockout av histonmetyltransferaset EZH2 i AKATA-celler upprätthållandet av latens genom att minska trimetyleringen av histon H3K27, vilket leder till ökat uttryck av både latenta och lytiska EBV-gener samt ökad virusreplikation och cellproliferation. AKATA-celler uppvisar också distinkta fenotypiska egenskaper beroende på EBV-förekomst, t.ex. ökad känslighet för apoptosframkallande medel och variationer i genuttryck relaterade till apoptosvägar. Dessa skillnader gör EBV-positiva AKATA-celler till en kraftfull modell för att dissekera EBV:s påverkan på värdcellens överlevnad, genuttryck och virusets livscykel, särskilt i samband med cancerutveckling och potentiella terapeutiska interventioner riktade mot EBV-associerade maligniteter.
Organism	Människan
Tissue	Blod
Disease	Burkitt-lymfom
Synonyms	Akata, Akata-BL, Akata BL, Akata-EC, Akata-Early Culture

Egenskaper

Age	4 år
Gender	Kvinna
Ethnicity	Japanska
Morphology	Lymfoblast

AKATA-celler | 305510

Cell type	B-cell
Growth properties	Avstängning

Lagstadgade uppgifter

Citation	AKATA (Cytion katalognummer 305510)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0148

Biomolekylära data

Viruses	Transformant: EBV

Hantering

Culture Medium	RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
Subculturing	Samla de suspenderade cellerna i ett 15 ml rör och tvätta försiktigt de vidhäftande cellerna med PBS utan kalcium och magnesium (använd 3-5 ml för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar). Applicera Accutase (1-2 ml för T25-kolvar, 2,5 ml för T75-kolvar) och se till att cellskiktet täcks helt. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 10 minuter. Efter inkubationen, kombinera och centrifugera både suspensionen och de vidhäftande cellerna. Efter centrifugering, resuspendera försiktigt cellpelleten och överför cellsuspensionen till nya kolvar med nytt medium.
Freeze medium	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

AKATA-celler | 305510

Thawing and Culturing Cells	1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten. 2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs. 3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår. 4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas. 5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt. 6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium. 7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolvar; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt. 8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, befuktad atmosfär.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.
Shipping Conditions	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Storage Conditions	För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekylär analys

Sterility	Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.