

DAKIKI-celler | 305928

Allmän information

Description

DAKIKI är en human B-lymfoblastoidcellinje som är positiv för Epstein-Barr-virus (EBV) och som uttrycker yt-IgA1 samt utsöndrar polymert IgA1. Den härstammar ursprungligen från perifera lymfocyter hos en vuxen patient med nasofaryngealt karcinom och etablerades därefter som en kontinuerligt prolifererande suspensionskultur. Cellerna uppvisar typisk lymfoblastoid morfologi och växer i RPMI-baserade medier kompletterade med serum. DAKIKI har använts i stor utsträckning som en modell för humana IgA1-producerande B-celler, särskilt för studier som undersöker immunoglobulinsyntes, reglering av utsöndring och posttranslationell glykosylering.

Biokemiska och lektinbaserade analyser har visat att IgA1 som utsöndras av DAKIKI-celler uppvisar O-länkade glykaner med galaktosbrist i ledregionen. Analys av monosackaridsammansättningen och lektin-ELISA bekräftar en anrikning av terminala eller α 2,6-sialylerade N-acetylgalaktosamin (GalNAc)-rester, en glykoform som är karakteristisk för onormalt glykosylerat IgA1 som observeras vid IgA-nefropati. Behandling med neuraminidas ökar markant reaktiviteten mot Helix aspersa-agglutinin, vilket indikerar förekomsten av sialylerade GalNAc-strukturer. Funktionella analyser med hjälp av Golgi-berikade fraktioner från DAKIKI-celler visar på CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1 α 2,6-sialyltransferasaktivitet, vilket bekräftar dessa cellers förmåga att direkt sialylera Gal-defekta O-glykaner. Transkriptionsanalyser avslöjar uttryck av ST6-GalNAcII men inte ST6-GalNAcI, vilket stöder ST6-GalNAcII:s roll i att förmedla α 2,6-sialylering av GalNAc i ledregionen i IgA1.

Utöver dess användbarhet inom glykosyleringsforskning har DAKIKI utvärderats med avseende på respons på B-cellinducerande faktorer och förbolestrar, vilka kan modulera immunoglobulinutsöndringen i vissa humana B-cellinjer. Eftersom DAKIKI konstitutivt utsöndrar IgA har den inkluderats bland EBV-transformerade B-cellmodeller som används för att studera regleringen av immunoglobulinproduktion och differentieringsstadier. Tack vare sin stabila IgA1-utsöndringsprofil och reproducerbara produktion av galaktosbristande, α 2,6-sialylerade glykaner i ledregionen, utgör DAKIKI ett välkarakteriserat in vitro-system för att undersöka mekanismerna för IgA1-glykosylering, B-cellsdifferentiering och den molekylära patogenesen av IgA-associerade sjukdomar.

Organism

Människan

Tissue

Perifert blod

Synonyms

DAKIKI, DAKIKI-klon 1

Egenskaper

Age

Ospecificerad

Gender

Ospecificerad

Ethnicity

Afrikanska

Morphology

lymfoblast

DAKIKI-celler | 305928

Cell type B-cell**Growth properties** Avstängning

Lagstadgade uppgifter

Citation DAKIKI (Cytion-katalognummer 305928)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3675

Biomolekylära data

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**Dissociation Reagent** Ingen**Subculturing** Homogenisera försiktigt cellsuspensionen i kolven genom att pipettera upp och ner, och ta sedan ett representativt prov för att bestämma celltätheten per ml. Späd suspensionen till en cellkoncentration på 1×10^5 celler/ml med färskt odlingsmedium och fördela den justerade suspensionen i nya kolvar för vidare odling.**Seeding density** $2-5 \times 10^5 \text{ cell}^{\text{er}}/\text{cm}^2$ **Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining.

DAKIKI-celler | 305928

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 200 x g i 5 minuter och kassera försiktigt supernatanten som innehåller frysmedium.
7. Följ den procedur som beskrivs under Post-Thaw Recovery

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

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 molekyllär analys