Product sheet

Bunky AKATA | 305510

Všeobecné informácie

Description	Bunková línia AKATA, odvodená od Burkittovho lymfómu, je široko používaným modelom na štúdium latencie a reaktivácie vírusu Epsteina-Barrovej (EBV). EBV je všadeprítomný herpesvírus, ktorý je spojený s celým radom nádorových ochorení vrátane Burkittovho lymfómu a zvyčajne sa v B-bunkách vytvára latentná infekcia. V bunkách AKATA sa EBV udržiava v epizomálnom stave s programom latencie typu I, pričom exprimuje obmedzený súbor vírusových génov, ako sú EBNA-1, EBER RNA a pravé transkripty BamHI-A (BART). Táto obmedzená expresia génov umožňuje vírusu pretrvávať v hostiteľovi bez toho, aby sa spustil úplný lytický cyklus. Bunky AKATA však môžu byť spustené tak, aby vstúpili do lytickej fázy, v ktorej sa vírus aktívne replikuje a produkuje potomstvo. Táto reaktivácia sa bežne vyvoláva zosieťovaním povrchových imunoglobulínov, čo z buniek AKATA robí vynikajúci nástroj na štúdium dynamiky reaktivácie EBV a regulácie vírusových génov. Výskum využívajúci bunkovú líniu AKATA skúmal aj vplyv chemoterapeutických látok na reaktiváciu EBV. Napríklad sa ukázalo, že lieky ako etopozid a doxorubicín ovplyvňujú latenciu vírusu. Etopozid indukuje apoptózu v bunkách AKATA, ale reaktivuje EBV menej účinne ako doxorubicín, ktorý podporuje vyššiu úroveň expresie lytických génov a produkciu vírusových potomkov. Okrem toho sa v štúdiách využívajúcich techniky úpravy génov, ako napríklad CRISPR/Cas9, skúmala úloha epigenetických regulátorov v bunkách AKATA. Napríklad vyradenie histónmetyltransferázy EZH2 v bunkách AKATA narúša udržiavanie latencie znížením trimetylácie histónu H3K27, čo vedie k zvýšenej expresii latentných aj lytických génov EBV, ako aj k zvýšenej replikácii vírusu a proliferácii buniek. Bunky AKATA tiež vykazujú odlišné fenotypové charakteristiky založené na prítomnosti EBV, ako je zvýšená citlivosť na látky indukujúce apoptózu a rozdiely v expresii génov súvisiacich s apoptotickými dráhami. Tieto rozdiely robia z EBV-pozitívnych AKATA buniek účinný model na skúmanie vplyvu EBV na prežívanie hostiteľských buniek, expresiu génov a životný cyklus vírusu, najmä v kontexte vývoja rakoviny a potenciálnych terapeutických zásahov zameraných na malignity spojené s EBV.
Organism	Ľudské
Tissue	Krv
Disease	Burkittov lymfóm
Synonyms	Akata, Akata-BL, Akata BL, Akata-EC, Akata-Early Culture

Charakteristika

Age	4 roky
Gender	Ženy
Ethnicity	Japonský
Morphology	Lymfoblast

Product sheet

Bunky AKATA | 305510

Cell type	B bunka
Growth properties	Pozastavenie

Regulačné údaje

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

Biomolekulárne údaje

Viruses	Transformant: EBV

Spracovanie

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS
Subculturing	Zhromaždite suspenzné bunky do 15 ml skúmavky a jemne premyte priľnuté bunky PBS bez vápnika a horčíka (použite 3-5 ml pre banky T25 a 5-10 ml pre banky T75). Aplikujte Accutase (1 - 2 ml pre banky T25, 2,5 ml pre banky T75), aby ste zabezpečili úplné pokrytie bunkovej vrstvy. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 10 minút. Po inkubácii spojte a odstreďte suspenziu aj adherované bunky. Po odstredení opatrne resuspendujte bunkovú peletu a preneste bunkovú suspenziu do nových baniek obsahujúcich čerstvé médium.
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Bunky AKATA | 305510

Thawing and Culturing Cells	1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota. 2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia. 3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč. 4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom. 5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte. 6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média. 7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek. 8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žiadne
Freezing Procedure	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility	Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.