

DAKIKI bunky | 305928

Všeobecné informácie

Description

DAKIKI je ľudská B-lymfoblastoidná bunková línia pozitívna na vírus Epstein-Barrov (EBV), ktorá exprimuje povrchový IgA1 a vylučuje polymérny IgA1. Bola pôvodne izolovaná z periférnych lymfocytov dospelého pacienta s karcinómom nosohltana a následne etablovaná ako nepretržite proliferujúca suspenzná kultúra. Bunky vykazujú typickú lymfoblastoidnú morfológiu a rastú v médiách na báze RPMI doplnených sérom. DAKIKI sa široko používa ako model ľudských B-buniek produkujúcich IgA1, najmä pre štúdie zamerané na syntézu imunoglobulínov, reguláciu sekrécie a posttranslačnú glykoziláciu.

Biochemické a lektínové analýzy preukázali, že IgA1 vylučované bunkami DAKIKI vykazujú O-viazané glykány s deficitom galaktózy v oblasti kĺbu. Analýza zloženia monosacharidov a ELISA s lektínmi potvrdzujú obohatenie o terminálne alebo α 2,6-sialylované zvyšky N-acetylglaktosamínu (GalNAc), čo je glykoforma charakteristická pre abnormálne glykozilované IgA1 pozorované pri IgA nefropatii. Liečba neuraminidázou výrazne zvyšuje reaktivitu aglutinínu *Helix aspersa*, čo naznačuje prítomnosť sialylovaných štruktúr GalNAc. Funkčné testy s použitím frakcií obohatených o Golgiho aparát z buniek DAKIKI preukazujú aktivitu CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1 α 2,6-sialyltransferázy, čo potvrdzuje schopnosť týchto buniek priamo sialylovať O-glykány s deficitom Gal. Transkripčné analýzy odhaľujú expresiu ST6-GalNAcII, ale nie ST6-GalNAcI, čo podporuje úlohu ST6-GalNAcII pri sprostredkovaní α 2,6-sialylácie GalNAc v oblasti kĺbu v IgA1.

Okrem svojho využitia vo výskume glykozilácie bol DAKIKI hodnotený z hľadiska citlivosti na faktory indukujúce B-bunky a forbolové estery, ktoré môžu modulovať sekréciu imunoglobulínov v určitých ľudských líniiach B-buniek. Hoci DAKIKI konštitutívne sekréтуje IgA, bol zaradený medzi modely B-buniek transformovaných EBV, ktoré sa používajú na štúdium regulácie produkcie imunoglobulínov a stavov diferenciácie. Vďaka svojmu stabilnému profilu sekrécie IgA1 a reprodukovateľnej produkcii glykánov v oblasti kĺbu s deficitom galaktózy a α 2,6-sialyláciou predstavuje DAKIKI dobre charakterizovaný in vitro systém na skúmanie mechanizmov glykozilácie IgA1, diferenciácie B-buniek a molekulárnej patogenézy porúch spojených s IgA.

Organism

Ľudské

Tissue

Periférna krv

Synonyms

DAKIKI, DAKIKI Klon 1

Charakteristika

Age

Nešpecifikované

Gender

Nešpecifikované

Ethnicity

African

Morphology

lymfoblast

Cell type

B-bunka

DAKIKI bunky | 305928

Growth
properties

Pozastavenie

Regulačné údaje

Citation DAKIKI (katalógové číslo Cytion 305928)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3675

Biomolekulárne údaje

Spracovanie

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Žiadne**Subculturing** Jemne homogenizujte bunkovú suspenziu v banke pipetovaním hore a dole, potom odoberte reprezentatívnu vzorku na stanovenie hustoty buniek na ml. Suspenziu zriedte čerstvým kultivačným médiom, aby ste dosiahli koncentráciu buniek 1×10^5 buniek/ml, a upravenú suspenziu rozdeľte do nových baniek na ďalšie kultivovanie.**Seeding density** $2 \text{ až } 5 \times 10^5$ buniek/cm²**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako médium na kryokonzerváciu používame kompletné rastové médium + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení.

DAKIKI bunky | 305928

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 200 x g počas 5 minút, supernatant obsahujúci zmrazovacie médium opatrne zlikvidujte.
7. Postupujte podľa postupu opísaného v časti Obnova po rozmrazení

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

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