

Celice AKATA | 305510

Splošne informacije

Description

Celična linija AKATA, pridobljena iz Burkittovega limfoma, je pogosto uporabljen model za preučevanje latence in reaktivacije virusa Epstein-Barr (EBV). EBV je vseprisoten herpesvirus, ki je povezan z vrsto rakov, vključno z Burkittovim limfomom, in se običajno latentno okuži v celicah B. V celicah AKATA se EBV ohranja v epizomskem stanju s programom latence tipa I in izraža omejen nabor virusnih genov, kot so EBNA-1, RNA EBER in desni transkripti BamHI-A (BART). To omejeno izražanje genov omogoča virusu, da se ohrani v gostitelju, ne da bi se začel polni litični cikel. Vendar se lahko celice AKATA sprožijo, da preidejo v litično fazo, v kateri se virus aktivno razmnožuje in proizvaja potomce. Ta reaktivacija se običajno sproži z navzkrižnim povezovanjem površinskih imunoglobulinov, zato so celice AKATA odlično orodje za preučevanje dinamike reaktivacije EBV in regulacije virusnih genov.

V raziskavah, ki so uporabljale celično linijo AKATA, so preučevali tudi vpliv kemoterapevtikov na reaktivacijo EBV. Pokazalo se je na primer, da zdravila, kot sta etopozid in doksorubicin, vplivajo na latenco virusa. Etopozid povzroči apoptozo v celicah AKATA, vendar reaktivira EBV manj učinkovito kot doksorubicin, ki spodbuja višjo raven izražanja liričnih genov in proizvodnjo virusnih potomcev. Poleg tega so študije, ki vključujejo tehnike urejanja genov, kot je CRISPR/Cas9, raziskovale vlogo epigenetskih regulatorjev v celicah AKATA. Na primer, izločitev histonske metiltransferaze EZH2 v celicah AKATA z zmanjšanjem trimetilacije histona H3K27 moti vzdrževanje latence, kar vodi v povečano izražanje latentnih in litičnih genov EBV ter povečano razmnoževanje virusa in proliferacijo celic.

Celice AKATA kažejo tudi različne fenotipske značilnosti glede na prisotnost EBV, kot so večja občutljivost na sredstva, ki povzročajo apoptozo, in razlike v izražanju genov, povezanih z apoptotskimi potmi. Zaradi teh razlik so EBV-pozitivne celice AKATA učinkovit model za preučevanje vpliva EBV na preživetje gostiteljskih celic, izražanje genov in življenjski cikel virusa, zlasti v kontekstu razvoja raka in morebitnih terapevtskih posegov, namenjenih malignomom, povezanim z EBV.

Organism Človek

Tissue Kri

Disease Burkittov limfom

Synonyms Akata, Akata-BL, Akata BL, Akata-EC, Akata-Early Culture

Značilnosti

Age 4 leta

Gender Ženske

Ethnicity Japonski

Morphology Limfoblast

Celice AKATA | 305510**Cell type** Celica B**Growth properties** Vzmetenje**Regulativni podatki****Citation** AKATA (katalogška številka Cytion 305510)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0148**Biomolekularni podatki****Viruses** Transformant: EBV**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820700a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Subculturing** V 15 ml epruveti zberite suspenzijske celice in jih nežno sperite s PBS brez kalcija in magnezija (uporabite 3-5 ml za bučke T25 in 5-10 ml za bučke T75). Uporabite Accutase (1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75), tako da popolnoma prekrijete plast celic. Počakajte, da se celice inkubirajo pri sobni temperaturi 10 minut. Po inkubaciji združite in centrifugirajte suspenzijo in adherentne celice. Po centrifugiranju previdno ponovno suspendirajte celično peleton in celično suspenzijo prenesite v nove bučke s svežim gojiščem.**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice AKATA | 305510

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice AKATA | 305510

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.