

DAKIKI celice | 305928

Splošne informacije

Description

DAKIKI je linija človeških B-limfoblastoidnih celic, pozitivnih na virus Epstein-Barr (EBV), ki izražajo površinski IgA1 in izločajo polimerni IgA1. Izvira iz perifernih limfocitov odraslega bolnika z rakom nosno-grlne sluznice, nakar je bila vzpostavljena kot neprekinjeno proliferativna suspenzijska kultura. Celice kažejo tipično limfoblastoidno morfologijo in rastejo v mediju na osnovi RPMI, dopolnjenem s serumom. DAKIKI se široko uporablja kot model človeških B-celic, ki proizvajajo IgA1, zlasti za študije, ki preučujejo sintezo imunoglobulina, regulacijo izločanja in posttranslacijsko glikozilacijo.

Biokemične analize in analize na osnovi lektinov so pokazale, da IgA1, ki ga izločajo celice DAKIKI, vsebuje O-vezane glikane z pomanjkanjem galaktoze v območju šarnirja. Analiza sestave monosaharidov in ELISA z lektinom potrjujeta obogatitev terminalnih ali α 2,6-sialiliranih ostankov N-acetilgalaktozamina (GalNAc), glikoforma, značilna za aberantno glikoziliran IgA1, opazovan pri IgA nefropatiji. Obdelava z nevraminidazo znatno poveča reaktivnost aglutinina Helix aspersa, kar kaže na prisotnost sialiliranih struktur GalNAc. Funkcionalni testi z uporabo frakcij, obogatenih z Golgi-aparatom iz celic DAKIKI, kažejo aktivnost CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1 α 2,6-sialiltransferaze, kar potrjuje sposobnost teh celic, da neposredno sialilirajo O-glikane brez galaktoze. Transkripcijske analize razkrivajo izražanje ST6-GalNAcII, ne pa ST6-GalNAcI, kar podpira vlogo ST6-GalNAcII pri posredovanju α 2,6-sialilacije GalNAc v območju tečaja v IgA1.

Poleg uporabnosti v raziskavah glikozilacije je bil DAKIKI ocenjen glede odzivnosti na dejavnike, ki inducirajo B-celice, in forbolne estre, ki lahko modulirajo izločanje imunoglobulina v nekaterih človeških linijah B-celic. Čeprav DAKIKI konstitutivno izloča IgA, je bil vključen med modele B-celic, transformiranih z EBV, ki se uporabljajo za preučevanje regulacije proizvodnje imunoglobulina in stanja diferenciacije. Zaradi stabilnega profila izločanja IgA1 in ponovljive proizvodnje glikanov v območju šarnirja, ki so pomanjkljivi v galaktozi in α 2,6-sialilirani, DAKIKI predstavlja dobro opredeljen in vitro sistem za preučevanje mehanizmov glikozilacije IgA1, diferenciacije B-celic in molekularne patogeneze motenj, povezanih z IgA.

Organism

Človek

Tissue

Periferna kri

Synonyms

DAKIKI, DAKIKI Klon 1

Značilnosti

Age

Neopredeljeno

Gender

Neopredeljeno

Ethnicity

Afriški

Morphology

limfoblast

Cell type

B-celica

DAKIKI celice | 305928

Growth
properties

Vzmetenje

Regulativni podatki

Citation DAKIKI (katalogska številka Cytion 305928)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3675

Biomolekularni podatki

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**Dissociation Reagent** Nič**Subculturing** Nežno homogenizirajte celično suspenzijo v kolbi s pipetiranjem navzgor in navzdol, nato odzemetite reprezentativni vzorec za določitev gostote celic na ml. Suspenzijo razredčite, da dosežete koncentracijo celic 1×10^5 celic/ml s svežim kultiviranim medijem, in prilagojeno suspenzijo razdelite v nove kolbe za nadaljnje gojenje.**Seeding density** 2 do 5×10^5 celic/cm²**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Freeze medium** Kot gojišče za krioprezervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi.

DAKIKI celice | 305928

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 kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°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°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 $200 \times g$ 5 minut, supernatant, ki vsebuje gojišče za zamrzovanje, previdno zavržite.
7. Izvedite postopek, opisan v poglavju Obnova po odmrzovanju

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

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°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

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.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza