Product sheet

AKATA Hücreleri | 305510

Genel bilgi

Description	Burkitt lenfomasından türetilen AKATA hücre hattı, Epstein-Barr virüsü (EBV) latansı ve reaktivasyonunu incelemek için yaygın olarak kullanılan bir modeldir. EBV, Burkitt lenfoma da dahil olmak üzere bir dizi kanserle bağlantılı her yerde bulunan bir herpesvirüstür ve tipik olarak B hücreleri içinde latent bir enfeksiyon oluşturur. AKATA hücrelerinde EBV, EBNA-1, EBER RNA'ları ve BamHI-A sağa transkriptleri (BART'lar) gibi sınırlı bir viral gen setini ifade eden tip I latans programı ile epizomal bir durumda tutulur. Bu kısıtlı gen ifadesi, virüsün tam bir litik döngü başlatmadan konakta kalmasını sağlar. Bununla birlikte, AKATA hücreleri, virüsün aktif olarak çoğaldığı ve döl ürettiği litik faza girmeleri için tetiklenebilir. Bu reaktivasyon genellikle yüzey immünoglobulinlerinin çapraz bağlanmasıyla indüklenir, bu da AKATA hücrelerini EBV reaktivasyon dinamiklerini ve viral gen düzenlemesini incelemek için mükemmel bir araç haline getirir. AKATA hücre hattını kullanan araştırmalar, kemoterapötik ajanların EBV reaktivasyonu üzerindeki etkisini de incelemiştir. Örneğin, etoposid ve doksorubisin gibi ilaçların viral latensi etkilediği gösterilmiştir. Etoposid, AKATA hücrelerinde apoptozu indükler, ancak EBV'yi doksorubisinden daha az etkili bir şekilde yeniden aktive eder, bu da daha yüksek seviyelerde litik gen ekspresyonunu ve viral progeny üretimini teşvik eder. Ek olarak, CRISPR/Cas9 gibi gen düzenleme tekniklerini içeren çalışmalar, AKATA hücrelerinde epigenetik düzenleyicilerin rolünü araştırmıştır. Örneğin, AKATA hücrelerinde histon metiltransferaz EZH2'nin nakavt edilmesi, histon H3K27'nin trimetilasyonunu azaltarak latentliğin sürdürülmesini bozar ve hem latent hem de litik EBV genlerinin ekspresyonunun yanı sıra gelişmiş viral replikasyon ve hücre proliferasyonuna yol açar. AKATA hücreleri ayrıca EBV varlığına bağlı olarak apoptozis indükleyici ajanlara karşı artan hassasiyet ve apoptotik yolaklarla ilgili gen ekspresyonundaki varyasyonlar gibi farklı fenotipik özellikler sergiler. Bu farklılıklar EBV-pozitif AKATA hücrelerini, EBV'nin konak hücre sağkalımı, gen ifadesi ve virüsün yaşam döngüsü üzerindeki etkisini, özellikle kanser gelişimi ve EBV ile ilişkili maligniteleri hedefleyen potansiyel terapötik müdahaleler bağlamında incelemek için güçlü bir model haline getirmektedir.
Organism	İnsan
Tissue	Kan
Disease	Burkitt lenfoma
Synonyms	Akata, Akata-BL, Akata BL, Akata-EC, Akata-Erken Kültür

Özellikler

Age	4 yıl
Gender	Kadın
Ethnicity	Japonca
Morphology	Lenfoblast

AKATA Hücreleri | 305510

Cell type	B hücresi
Growth properties	Süspansiyon

Düzenleyici Veriler

Citation	AKATA (Cytion katalog numarası 305510)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0148

Biyomoleküler Veriler

Viruses	Transformant: EBV

Elleçleme

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w: 2.0 g/L NaHCO3 (Cytion makale numarası 820700a)
Supplements	Ortamı %10 FBS ile takviye edin
Subculturing	Süspansiyon hücrelerini 15 ml'lik bir tüpte toplayın ve yapışık hücreleri kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile nazikçe yıkayın (T25 şişeleri için 3-5 ml ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın). Accutase uygulayın (T25 şişeler için 1-2 ml, T75 şişeler için 2,5 ml) ve hücre tabakasının tamamen kaplandığından emin olun. Hücreleri 10 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübasyona bırakın. İnkübasyonun ardından, hem süspansiyonu hem de yapışık hücreleri birleştirin ve santrifüjleyin. Santrifüjden sonra hücre peletini dikkatlice yeniden süspanse edin ve hücre süspansiyonunu taze ortam içeren yeni şişelere aktarın.
Freeze medium	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

AKATA Hücreleri | 305510

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyoviali hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5 $_{CO2}$, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions	Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz

Sterility	Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır. Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.