

DAKIKI Hücreleri | 305928

Genel bilgi

Description

DAKIKI, yüzeyde IgA1 eksprese eden ve polimerik IgA1 salgılayan, insan Epstein-Barr virüsü (EBV) pozitif bir B-lenfoblastoid hücre hattıdır. İlk olarak nazofarenks karsinomu olan bir yetişkin hastanın periferik lenfositlerinden elde edilmiş ve daha sonra sürekli çoğalan bir süspansiyon kültürü olarak kurulmuştur. Hücreler tipik lenfoblastoid morfolojisi sergiler ve serum ilaveli RPMI bazlı besiyerlerinde büyür. DAKIKI, insan IgA1 üreten B hücrelerinin bir modeli olarak, özellikle immünoglobulin sentezi, salgı düzenlemesi ve transkripsiyon sonrası glikozilasyonu araştıran çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır.

Biyokimyasal ve lektin bazlı analizler, DAKIKI hücreleri tarafından salgılanan IgA1'in menteşe bölgesinde galaktoz eksikliği olan O-bağlı glikanlar sergilediğini göstermiştir. Monosakkarit bileşim analizi ve lektin ELISA, IgA nefropatisinde gözlenen anormal glikozile IgA1'in karakteristik bir glikoformu olan terminal veya α 2,6-sialile N-asetilgalaktozamin (GalNAc) kalıntılarının zenginleşmesini doğrulamaktadır. Nöraminidaz tedavisi, Helix aspersa aglütinin reaktivitesini belirgin şekilde artırır; bu da sialile GalNAc yapılarının varlığını gösterir. DAKIKI hücrelerinden elde edilen Golgi fraksiyonlarını kullanan fonksiyonel testler, CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1 α 2,6-sialiltransferaz aktivitesini ortaya koyar ve bu hücrelerin Gal eksikliği olan O-glikozanları doğrudan sialile etme kapasitesini doğrular. Transkripsiyon analizleri, ST6-GalNAcI'nin değil, ST6-GalNAcII'nin ekspresyonunu ortaya koymaktadır; bu da, IgA1'deki menteşe bölgesi GalNAc'ın α 2,6 sialilasyonunda ST6-GalNAcII'nin aracılık rolünü desteklemektedir.

Glikosilasyon araştırmalarındaki yararına ek olarak, DAKIKI, belirli insan B hücre hatlarında immünoglobulin salgılanmasını modüle edebilen B hücresi indükleyici faktörlere ve forbol esterlerine yanıt verme açısından değerlendirilmiştir. DAKIKI, yapısal olarak IgA salgılarken, immünoglobulin üretiminin düzenlenmesi ve farklılaşma durumlarını incelemek için kullanılan EBV ile dönüştürülmüş B hücresi modelleri arasında dahil edilmiştir. DAKIKI, stabil IgA1 salgılama profili ve galaktoz eksikliği olan, α 2,6-sialile edilmiş menteşe bölgesi glikanlarının tekrarlanabilir üretimi sayesinde, IgA1 glikozilasyon mekanizmalarını, B hücresi farklılaşmasını ve IgA ile ilişkili bozuklukların moleküler patogenezini araştırmak için iyi karakterize edilmiş bir in vitro sistem sunmaktadır.

Organism

İnsan

Tissue

Periferik kan

Synonyms

DAKIKI, DAKIKI Klonu 1

Özellikler

Age

Belirtilmemiş

Gender

Belirtilmemiş

Ethnicity

Afrika

Morphology

lenfoblast

DAKIKI Hücreleri | 305928

Cell type B hücresi**Growth properties** Süspansiyon

Düzenleyici Veriler

Citation DAKIKI (Cytion katalog numarası 305928)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3675

Biyomoleküler Veriler

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**Dissociation Reagent** Yok**Subculturing** Şişedeki hücre süspansiyonunu pipetle yukarı aşağı hareket ettirerek nazıkçe homojenleştirin, ardından ml başına hücre yoğunluğunu belirlemek için temsili bir numune alın. Süspansiyonu, 1×10^5 hücre/ml hücre konsantrasyonuna ulaşmak için taze kültür ortamı ile seyreltin ve ayarlanan süspansiyonu daha fazla kültürleme için yeni şişelere bölün.**Seeding density** 2 ila 5×10^5 hücre/cm²**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı + %10 DMSO kullanıyoruz.

DAKIKI Hücreleri | 305928

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 kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir ajan 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 flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Karışımı 200 x g'de 5 dakika santrifüjleyin, dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Çözülme Sonrası Kurtarma altında açıklanan prosedürü izleyin

Incubation Atmosphere

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

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