

Клітини АКАТА | 305510

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія АКАТА, отримана з лімфоми Беркїтта, є широко використовуваною моделлю для вивчення латентності та реактивації вірусу Епштейна-Барр (EBV). EBV - це всюдисущий герпесвірус, пов'язаний з низкою видів раку, включаючи лімфому Беркїтта, і, як правило, встановлює латентну інфекцію в клітинах В-лімфоцитів. У клітинах АКАТА EBV підтримується в епісомному стані за допомогою програми латентності типу I, експресуючи обмежений набір вірусних генів, таких як EBNA-1, EBER PNH і BamHI-A транскрипти, спрямовані вправо (BARTs). Така обмежена експресія генів дозволяє вірусу персистувати в організмі хазяїна, не ініціюючи повний літичний цикл. Однак клітини АКАТА можуть бути спровоковані до вступу в літичну фазу, де вірус активно реплікується і продукує нащадків. Ця реактивація зазвичай індукується шляхом зшивання поверхневих імуноглобулінів, що робить клітини АКАТА чудовим інструментом для вивчення динаміки реактивації EBV та регуляції вірусних генів.

Дослідження з використанням клітинної лінії АКАТА також вивчали вплив хімотерапевтичних препаратів на реактивацію ВЕБ. Наприклад, було показано, що такі препарати, як етопозид і доксорубіцин, впливають на вірусну латентність. Етопозид індукуює апоптоз у клітинах АКАТА, але реактивує EBV менш ефективно, ніж доксорубіцин, який сприяє вищому рівню експресії літичних генів і виробленню вірусних нащадків. Крім того, дослідження із застосуванням методів редагування генів, таких як CRISPR/Cas9, вивчали роль епігенетичних регуляторів у клітинах АКАТА. Наприклад, нокаут гістонметилтрансферази EZH2 в клітинах АКАТА порушує підтримання латентності шляхом зменшення триметилування гістону H3K27, що призводить до посилення експресії як латентних, так і літичних генів ВЕБ, а також до посилення реплікації вірусу і проліферації клітин.

Клітини АКАТА також демонструють відмінні фенотипічні характеристики, пов'язані з присутністю EBV, такі як підвищена чутливість до агентів, що індукують апоптоз, і варіації в експресії генів, пов'язаних з апоптотичними шляхами. Ці відмінності роблять EBV-позитивні клітини АКАТА потужною моделлю для вивчення впливу EBV на виживання клітин-хазяїв, експресію генів та життєвий цикл вірусу, особливо в контексті розвитку раку та потенційних терапевтичних втручань, спрямованих на EBV-асоційовані злоякісні пухлини.

Organism Людина

Tissue Кров

Disease Лімфома Беркїтта

Synonyms Аката, Аката-BL, Аката BL, Аката-ЕС, Аката-рання культура

Характеристики

Age 4 роки

Gender Жінка

Ethnicity Японський

Клітини АКАТА | 305510

Morphology Лімфобласт

Cell type В-клітина

Growth properties Підвіска

Нормативні дані

Citation АКАТА (номер за каталогом 305510)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0148

Біомолекулярні дані

Viruses Трансформер: EBV

Обробка

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO₃ (номер за каталожним номером 820700a)

Supplements Додайте до середовища 10% FBS

Subculturing Зберіть суспензію клітин у пробірку на 15 мл і обережно відмийте прилиплі клітини PBS, що не містить кальцію і магнію (використовуйте 3-5 мл для колб T25 і 5-10 мл для колб T75). Нанесіть ацетазу (1-2 мл для колб T25, 2,5 мл для колб T75), забезпечуючи повне покриття клітинного шару. Інкубуйте клітини при кімнатній температурі протягом 10 хвилин. Після інкубації об'єднайте і центрифугуйте суспензію і прилиплі клітини. Після центрифугування обережно ресуспендуйте клітинну гранулу і перенесіть клітинну суспензію в нові колби зі свіжим середовищем.

Freeze medium Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини AKATA | 305510

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини AKATA | 305510

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.