

Клітини DAKIKI | 305928

Загальна інформація

Description

DAKIKI — це лінія В-лімфобластоїдних клітин людини, позитивних за вірусом Епштейна-Барра (EBV), які експресують поверхневий IgA1 та секретують полімерний IgA1. Спочатку її виділили з периферичних лімфоцитів дорослого пацієнта з раком носоглотки, а згодом створили як безперервно проліферуючу суспензійну культуру. Клітини мають типову лімфобластоїдну морфологію та ростуть у середовищах на основі RPMI, доповнених сироваткою. DAKIKI широко використовується як модель людських В-клітин, що продукують IgA1, зокрема для досліджень синтезу імуноглобуліну, регуляції секреції та посттрансляційної глікозилювання.

Біохімічні та лектинові аналізи показали, що IgA1, що секретується клітинами DAKIKI, містить О-пов'язані глікани з дефіцитом галактози в області шарніра. Аналіз складу моносахаридів та лектиновий ELISA підтверджують збагачення кінцевих або α 2,6-сіалізованих залишків N-ацетилгалактозаміну (GalNAc) — глікоформи, характерної для аномально глікозильованого IgA1, що спостерігається при IgA-нефропатії. Обробка нейрамінідазою помітно підвищує реактивність до аглютиніну *Helix aspersa*, що вказує на наявність сіалізованих структур GalNAc. Функціональні аналізи з використанням фракцій, збагачених апаратом Гольджі, з клітин DAKIKI демонструють активність CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1 α 2,6-сіалілтрансферази, підтверджуючи здатність цих клітин безпосередньо сіалізувати О-глікани з дефіцитом галактози. Аналіз транскрипції виявляє експресію ST6-GalNAcII, але не ST6-GalNAcI, що підтверджує роль ST6-GalNAcII у посередництві α 2,6-сіалілювання GalNAc у шарнірній ділянці IgA1.

Окрім своєї корисності в дослідженнях глікозилювання, DAKIKI було оцінено на чутливість до факторів, що індукують В-клітини, та форболових ефірів, які можуть модулювати секрецію імуноглобуліну в певних лініях людських В-клітин. Хоча DAKIKI конститутивно секретує IgA, його включено до моделей В-клітин, трансформованих вірусом Епштейна-Барра (EBV), що використовуються для вивчення регуляції виробництва імуноглобуліну та станів диференціації. Завдяки стабільному профілю секреції IgA1 та відтворюваному виробництву гліканів з дефіцитом галактози та α 2,6-сіалізованою шарнірною ділянкою, DAKIKI представляє добре охарактеризовану *in vitro* систему для дослідження механізмів глікозилювання IgA1, диференціації В-клітин та молекулярної патогенезу розладів, пов'язаних з IgA.

Organism

Людина

Tissue

Периферична кров

Synonyms

ДАКІКІ, DAKIKI Клон 1

Характеристики

Age

Не визначено

Gender

Не визначено

Ethnicity

Африканський

Morphology

лімфобласт

Клітини DAKIKI | 305928

Cell type В-клітина**Growth properties** Підвіска

Нормативні дані

Citation DAKIKI (номер у каталозі Cytion 305928)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3675

Біомолекулярні дані

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**Dissociation Reagent** Ні**Subculturing** Акуратно гомогенізуйте суспензію клітин у колбі, піпетуючи її вгору і вниз, а потім візьміть репрезентативну пробу для визначення щільності клітин на мл. Розведіть суспензію свіжим культуральним середовищем до концентрації 1×10^5 клітин/мл і розлийте відрегульовану суспензію в нові колби для подальшого культивування.**Seeding density** від 2 до 5×10^5 клітин/см²**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень**Freeze medium** В якості середовища для криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після розморожування.

Клітини DAKIKI | 305928

**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 кріовіал 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 кріовіал 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. Центрифугуйте суміш при $200 \times g$ протягом 5 хвилин, обережно відкиньте надосадову рідину, що містить заморожувальне середовище.
7. Виконайте процедуру, описану в розділі Відновлення після відтавання

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

**Shipping
Conditions**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній 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.

**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 та молекулярний аналіз