

Células DAKIKI | 305928

Información general

Description

DAKIKI es una línea celular linfoblastoide B humana positiva para el virus de Epstein-Barr (VEB) que expresa IgA1 de superficie y secreta IgA1 polimérica. Se derivó originalmente de linfocitos periféricos de un paciente adulto con carcinoma nasofaríngeo y, posteriormente, se estableció como un cultivo en suspensión de proliferación continua. Las células presentan una morfología linfoblastoide típica y crecen en medios a base de RPMI suplementados con suero. DAKIKI se ha utilizado ampliamente como modelo de células B humanas productoras de IgA1, particularmente para estudios que investigan la síntesis de inmunoglobulinas, la regulación de la secreción y la glicosilación postraduccional.

Los análisis bioquímicos y basados en lectinas han demostrado que la IgA1 secretada por las células DAKIKI presenta glicanos O-ligados con deficiencia de galactosa en la región de bisagra. El análisis de la composición de monosacáridos y el ELISA con lectinas confirman el enriquecimiento de residuos terminales o de N-acetilgalactosamina (GalNAc) α 2,6-sialilada, una glicofoma característica de la IgA1 con glicosilación anómala observada en la nefropatía por IgA. El tratamiento con neuraminidasa aumenta notablemente la reactividad de la aglutinina de Helix aspersa, lo que indica la presencia de estructuras de GalNAc sialiladas. Los ensayos funcionales con fracciones enriquecidas en el aparato de Golgi de células DAKIKI demuestran la actividad de la α 2,6-sialiltransferasa CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1, lo que confirma la capacidad de estas células para sialilar directamente O-glicanos deficientes en Gal. Los análisis transcripcionales revelan la expresión de ST6-GalNAcII, pero no de ST6-GalNAcI, lo que respalda el papel de ST6-GalNAcII en la mediación de la sialilación α 2,6 del GalNAc de la región bisagra en la IgA1.

Además de su utilidad en la investigación sobre la glicosilación, se ha evaluado a DAKIKI en cuanto a su respuesta a factores inductores de células B y a los ésteres de forbol, que pueden modular la secreción de inmunoglobulinas en ciertas líneas celulares B humanas. Si bien DAKIKI secreta IgA de manera constitutiva, se ha incluido entre los modelos de células B transformadas por el VEB que se utilizan para estudiar la regulación de la producción de inmunoglobulinas y los estados de diferenciación. Gracias a su perfil estable de secreción de IgA1 y a la producción reproducible de glicanos de la región de bisagra α 2,6-sialilados y deficientes en galactosa, DAKIKI representa un sistema in vitro bien caracterizado para investigar los mecanismos de glicosilación de la IgA1, la diferenciación de las células B y la patogénesis molecular de los trastornos asociados a la IgA.

Organism

Humano

Tissue

Sangre periférica

Synonyms

DAKIKI, Clon 1 de DAKIKI

Características

Age

Sin especificar

Gender

Sin especificar

Ethnicity

Africano

Células DAKIKI | 305928**Morphology** linfoblasto**Cell type** Célula B**Growth properties** Suspensión**Datos normativos****Citation** DAKIKI (número de catálogo de Cytion 305928)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3675**Datos biomoleculares****Manejo****Culture Medium** RPMI 1640, con 2,0 mM de glutamina estable y 2,0 g/L de NaHCO₃ (número de artículo de Cytion: 820700a)**Supplements** Añade al medio un 10 % de FBS**Dissociation Reagent** Ninguno**Subculturing** Homogeneice suavemente la suspensión celular en el matraz pipeteando de arriba hacia abajo; luego, tome una muestra representativa para determinar la densidad celular por ml. Diluya la suspensión con medio de cultivo fresco hasta alcanzar una concentración celular de 1×10^5 células/ml, y divida la suspensión ajustada en alícuotas en matraces nuevos para continuar con el cultivo.**Seeding density** De 2 a 5×10^5 células/cm²**Fluid renewal** De 2 a 3 veces por semana**Freeze medium** Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo con un 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación.

Células DAKIKI | 305928**Thawing and
Culturing Cells**

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a $200 \times g$ durante 5 minutos; deseche con cuidado el sobrenadante que contiene el medio de congelación.
7. Siga el procedimiento descrito en la sección «Recuperación posterior a la descongelación»

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % de CO_2 , atmósfera humidificada.

**Shipping
Conditions**

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente -78°C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

**Storage
Conditions**

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y -196°C , aproximadamente. El almacenamiento a -80°C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular