

Cellules DAKIKI | 305928

Renseignements généraux

Description

DAKIKI est une lignée cellulaire lymphoblastoïde B humaine positive pour le virus d'Epstein-Barr (VEB) qui exprime l'IgA1 de surface et sécrète de l'IgA1 polymérique. Elle a été initialement dérivée de lymphocytes périphériques d'un patient adulte atteint d'un carcinome nasopharyngé, puis établie sous forme de culture en suspension à prolifération continue. Les cellules présentent une morphologie lymphoblastoïde typique et se développent dans des milieux à base de RPMI enrichis en sérum. DAKIKI est largement utilisée comme modèle de cellules B humaines productrices d'IgA1, en particulier pour les études portant sur la synthèse des immunoglobulines, la régulation de la sécrétion et la glycosylation post-traductionnelle.

Des analyses biochimiques et basées sur les lectines ont démontré que l'IgA1 sécrétée par les cellules DAKIKI présente des glycanes O-liés déficients en galactose au sein de la région charnière. L'analyse de la composition en monosaccharides et le test ELISA à base de lectine confirment l'enrichissement en résidus terminaux ou en résidus de N-acétylgalactosamine (GalNAc) α 2,6-sialylés, une glycoforme caractéristique de l'IgA1 glycosylée de manière anormale observée dans la néphropathie à IgA. Le traitement à la neuraminidase augmente considérablement la réactivité de l'agglutinine *Helix aspersa*, ce qui indique la présence de structures de GalNAc sialylées. Des essais fonctionnels utilisant des fractions enrichies en appareil de Golgi provenant de cellules DAKIKI démontrent une activité α 2,6-sialyltransférase CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1, confirmant la capacité de ces cellules à sialyler directement des O-glycanes déficients en Gal. Des analyses transcriptionnelles révèlent l'expression de ST6-GalNAcII, mais non de ST6-GalNAcI, ce qui corrobore le rôle de ST6-GalNAcII dans la médiation de la sialylation α 2,6 du GalNAc de la région charnière de l'IgA1.

Outre son utilité dans la recherche sur la glycosylation, DAKIKI a été évalué quant à sa réactivité aux facteurs inducteurs de cellules B et aux esters de phorbol, qui peuvent moduler la sécrétion d'immunoglobulines dans certaines lignées de cellules B humaines. Bien que DAKIKI sécrète de l'IgA de manière constitutive, elle a été incluse parmi les modèles de cellules B transformées par l'EBV utilisés pour étudier la régulation de la production d'immunoglobulines et les états de différenciation. Grâce à son profil de sécrétion d'IgA1 stable et à sa production reproductible de glycanes de la région charnière déficients en galactose et α 2,6-sialylés, DAKIKI constitue un système in vitro bien caractérisé pour l'étude des mécanismes de glycosylation de l'IgA1, la différenciation des cellules B et la pathogenèse moléculaire des troubles associés à l'IgA.

Organism

Humain

Tissue

Sang périphérique

Synonyms

DAKIKI, DAKIKI Clone 1

Caractéristiques

Age

Non précisé

Gender

Non précisé

Ethnicity

africain

Cellules DAKIKI | 305928

Morphology lymphoblaste**Cell type** cellule B**Growth properties** Suspension

Données réglementaires

Citation DAKIKI (numéro de catalogue Cytion 305928)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3675

Données biomoléculaires

Manipulation

Culture Medium RPMI 1640, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de NaHCO_3 (numéro d'article Cytion 820700a)**Supplements** Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture**Dissociation Reagent** Aucun**Subculturing** Homogénéisez délicatement la suspension cellulaire dans le flacon en pipettant de haut en bas, puis prélevez un échantillon représentatif afin de déterminer la densité cellulaire par ml. Diluez la suspension avec du milieu de culture frais jusqu'à obtenir une concentration cellulaire de 1×10^5 cellules/ml, puis répartissez la suspension ajustée en aliquotes dans de nouveaux flacons en vue de la poursuite de la culture.**Seeding density** de 2 à 5×10^5 cellules/cm²**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet additionné de 10 % de DMSO afin d'assurer une viabilité adéquate après décongélation.

Cellules DAKIKI | 305928

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 200 x g pendant 5 minutes, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation.
7. Suivre la procédure décrite dans la section « Récupération après décongélation ».

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO₂, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire