

Células DAKIKI | 305928

Informações gerais

Description

A DAKIKI é uma linhagem celular linfoblastoide B humana positiva para o vírus de Epstein-Barr (EBV) que expressa IgA1 de superfície e secreta IgA1 polimérica. Ela foi originalmente derivada de linfócitos periféricos de um paciente adulto com carcinoma nasofaríngeo e, posteriormente, estabelecida como uma cultura em suspensão de proliferação contínua. As células apresentam morfologia linfoblastoide típica e crescem em meios à base de RPMI suplementados com soro. A DAKIKI tem sido amplamente utilizada como modelo de células B produtoras de IgA1 humana, particularmente para estudos que investigam a síntese de imunoglobulinas, a regulação da secreção e a glicosilação pós-traducional.

Análises bioquímicas e baseadas em lectinas demonstraram que a IgA1 secretada pelas células DAKIKI apresenta glicanos O-ligados com deficiência de galactose na região da articulação. A análise da composição de monossacarídeos e o ELISA com lectinas confirmam o enriquecimento de resíduos terminais ou de N-acetilgalactosamina (GalNAc) α 2,6-sialilada, uma glicoforma característica da IgA1 glicosilada de forma anômala observada na nefropatia por IgA. O tratamento com neuraminidase aumenta significativamente a reatividade da aglutinina Helix aspersa, indicando a presença de estruturas de GalNAc sialiladas. Ensaio funcionais utilizando frações enriquecidas em Golgi de células DAKIKI demonstram atividade da α 2,6-sialiltransferase CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1, confirmando a capacidade dessas células de sialilar diretamente O-glicanos deficientes em Gal. Análises transcricionais revelam a expressão de ST6-GalNAcII, mas não de ST6-GalNAcI, corroborando o papel de ST6-GalNAcII na mediação da sialilação α 2,6 do GalNAc da região de articulação na IgA1.

Além de sua utilidade na pesquisa de glicosilação, o DAKIKI foi avaliado quanto à sua responsividade a fatores indutores de células B e ésteres de forbol, que podem modular a secreção de imunoglobulinas em certas linhagens de células B humanas. Embora o DAKIKI secreta IgA de forma constitutiva, ele foi incluído entre os modelos de células B transformadas pelo EBV utilizados para estudar a regulação da produção de imunoglobulinas e os estados de diferenciação. Devido ao seu perfil estável de secreção de IgA1 e à produção reproduzível de glicanos da região de articulação, α 2,6-sialilados e deficientes em galactose, o DAKIKI representa um sistema in vitro bem caracterizado para investigar os mecanismos de glicosilação da IgA1, diferenciação de células B e a patogênese molecular de doenças associadas à IgA.

Organism

Humano

Tissue

Sangue periférico

Synonyms

DAKIKI, Clone 1 do DAKIKI

Características

Age

Não especificado

Gender

Não especificado

Ethnicity

africano

Morphology

linfoblasto

Células DAKIKI | 305928**Cell type** Célula B**Growth properties** Suspensão**Dados regulatórios****Citation** DAKIKI (número de catálogo da Cytion 305928)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3675**Dados biomoleculares****Manuseio****Culture Medium** RPMI 1640, com 2,0 mM de glutamina estável e 2,0 g/L de NaHCO₃ (número de artigo da Cytion: 820700a)**Supplements** Adicione 10% de FBS ao meio**Dissociation Reagent** Nenhum**Subculturing** Homogeneíze suavemente a suspensão celular no frasco por meio de pipetagem para cima e para baixo e, em seguida, colete uma amostra representativa para determinar a densidade celular por ml. Dilua a suspensão com meio de cultura fresco até atingir uma concentração celular de 1×10^5 células/ml e distribua a suspensão ajustada em alíquotas em novos frascos para continuação do cultivo.**Seeding density** $2 \text{ a } 5 \times 10^5 \text{ células/cm}^2$ **Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo + 10% de DMSO para garantir uma viabilidade adequada após o descongelamento.

Células DAKIKI | 305928

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugue a mistura a 200 x g por 5 minutos e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento.
7. Siga o procedimento descrito na seção “Recuperação pós-descongelamento”

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular