DAKIKI

305928

GENERAL INFORMATION

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 des 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) α2,6-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 α2,6-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 α2,6 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 α2,6-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.

Tissue	Sang périphérique

Synonyms

- DAKIKI
- DAKIKI Clone 1

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Unspecified
Growth properties	Suspension
Biosafety level	2

CHARACTERISTICS

Morphology	lymphoblaste
Cell type	cellule B

IDENTIFIERS

Citation

DAKIKI (numéro de catalogue Cytion 305928)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_3675

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

RPMI 1640, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de $NaHCO_3$ (numéro d'article Cytion 820700a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

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/cm^2
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine

Thawing and culturing

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 200 x g for 5 minutes, carefully discard the supernatant containing freezing medium.
Follow the procedure described under Post-Thaw Recovery

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

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.

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.

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.

DONOR

Donor age	Non précisé

Ethnicity	africain

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Lorsqu'on prévoit entreposer un cryotube dans de l'azote liquide en vue d'une décongélation ultérieure, il est impératif de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Le port de gants et de vêtements de protection appropriés est essentiel, et l'utilisation d'un masque facial ou de lunettes de protection est obligatoire lors du transfert d'échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d'azote liquide. Cette précaution vise à réduire le risque de blessure causé par d'éventuelles explosions de cryotubes lors de leur retrait, pouvant entraîner la projection de fragments coupants.

Warranty

Chez Cytion, nous garantissons la qualité et la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant
60 jours à compter de leur expédition depuis nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le
certificat d'analyse et/ou la fiche technique du produit.
Pour plus de détails, veuillez consulter notre
déclaration de garantie.

Material Transfer Agreement required	Yes