DAKIKI

305928

ALGEMENE INFORMATIE

Beschrijving

DAKIKI is een menselijke Epstein-Barr-virus (EBV)-positieve B-lymfoblastoïde cellijn die IgA1 aan het celoppervlak tot expressie brengt en polymeer IgA1 afscheidt. De lijn is oorspronkelijk afgeleid van perifere lymfocyten van een volwassen patiënt met nasofarynxcarcinoom en vervolgens gekweekt als een continu prolifererende suspensiecultuur. De cellen vertonen een typische lymfoblastoïde morfologie en groeien in RPMI-gebaseerde media aangevuld met serum. DAKIKI wordt op grote schaal gebruikt als model voor menselijke IgA1-producerende B-cellen, met name voor studies naar de synthese van immunoglobulinen, de regulering van de afscheiding en posttranslationele glycosylatie. Biochemische en op lectine gebaseerde analyses hebben aangetoond dat het door DAKIKI-cellen uitgescheiden IgA1 O-gekoppelde glycanen met een tekort aan galactose vertoont in het scharniergebied. Analyse van de monosaccharidesamenstelling en lectine-ELISA bevestigen de verrijking van terminale of α2,6-gesialyleerde N-acetylgalactosamine (GalNAc)-residuen, een glycoform die kenmerkend is voor afwijkend geglycosyleerd IgA1 dat wordt waargenomen bij IgA-nefropathie. Behandeling met neuraminidase verhoogt de reactiviteit van Helix aspersa-agglutinine aanzienlijk, wat wijst op de aanwezigheid van gesialyleerde GalNAc-structuren. Functionele testen met Golgi-verrijkte fracties van DAKIKI-cellen tonen CMP-NeuAc:GalNAc-IgA1 α2,6-sialyltransferase-activiteit aan, wat het vermogen van deze cellen bevestigt om Gal-deficiënte O-glycanen direct te sialyleren. Transcriptieanalyses tonen de expressie van ST6-GalNAcII aan, maar niet die van ST6-GalNAcI, wat de rol van ST6-GalNAcII bij het mediëren van α2,6-sialylatie van GalNAc in het scharniergebied van IgA1 ondersteunt. Naast het nut ervan in glycosylatieonderzoek is DAKIKI geëvalueerd op de responsiviteit op B-cel-inducerende factoren en forbolesters, die de immunoglobulinesecretie in bepaalde menselijke B-cellijnen kunnen moduleren. Hoewel DAKIKI constitutief IgA afscheidt, is het opgenomen in EBV-getransformeerde B-celmodellen die worden gebruikt om de regulatie van de immunoglobulineproductie en differentiatiestadia te bestuderen. Dankzij het stabiele IgA1-secretieprofiel en de reproduceerbare productie van galactose-deficiënte, α2,6-gesialyleerde glycanen in het scharniergebied, vertegenwoordigt DAKIKI een goed gekarakteriseerd in-vitrosysteem voor het onderzoeken van mechanismen van IgA1-glycosylatie, B-celdifferentiatie en de moleculaire pathogenese van IgA-gerelateerde aandoeningen.

Weefsel	Perifeer bloed

Synoniemen

- DAKIKI
- DAKIKI Clone 1

CLASSIFICATIE

Organisme	Mens
Seks	Niet gespecificeerd
Groei-eigenschappen	Ophanging
Bioveiligheidsniveau	2

KENMERKEN

Morfologie	lymfoblast
Celtype	B-cel

IDENTIFICATIEGEGEVENS

Bronvermelding

DAKIKI (Cytion-catalogusnummer 305928)

NCBI-belastingnummer	9606

Cellosaurus	CVCL_3675

BEHANDELING EN KWEEK

Kweekmedium

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820700a)

Incubatieomgeving	37°C, 5%CO2, bevochtigde atmosfeer.

Supplementen

Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociatiereagens	Geen

Heruitplanten

Homogeniseer de celsuspensie in de kolf voorzichtig door op en neer te pipetteren en neem vervolgens een representatief monster om de celdichtheid per ml te bepalen. Verdun de suspensie tot een celconcentratie van 1 x 10^5 cellen/ml met vers kweekmedium en verdeel de aangepaste suspensie in nieuwe kolven voor verdere kweek.

Zaaidichtheid	2 tot 5 × 10^5 cellen/cm^2
Vloeistofverversing	2 tot 3 keer per week

Ontdooien en kweken

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

KWALITEITSCONTROLE EN CRYOPRESERVATIE

Kweekmedium invriezen	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien.

Opslagvoorwaarden

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Verzendvoorwaarden

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

DONATEUR

Leeftijd van de donor	Ongespecificeerd
Etnische afkomst	Afrikaans

JURIDISCHE EN VEILIGHEIDSASPECTEN

Veiligheidsmaatregelen

Wanneer men van plan is om een cryovial in vloeibare stikstof op te slaan om later te ontdooien, is het verplicht om strenge veiligheidsmaatregelen in acht te nemen. Passende beschermende handschoenen en kleding zijn essentieel en het gebruik van een gezichtsmasker of veiligheidsbril is vereist tijdens het overbrengen van bevroren monsters naar of uit de tank met vloeibare stikstof. Dit is om het risico op letsel door mogelijke cryoviale explosies bij het verwijderen te beperken, wat kan resulteren in de projectie van scherpe fragmenten.

Garantie

Bij Cytion staan we achter de kwaliteit en levensvatbaarheid van onze producten.
We garanderen dat onze cellen levensvatbaar zijn bij het begin van de kweek gedurende 60 dagen na verzending vanuit onze faciliteiten.
We verzekeren dat alle materialen voldoen aan de specificaties beschreven in het analysecertificaat en/of productblad
Raadpleeg voor volledige informatie onze <a href=""/Wie-zijn-wij/Garantie/"" hreflang=""x-default"">Garantieverklaring

Er is een overeenkomst inzake materiaaloverdracht vereist	Yes