

Клетки TMD8 | 305729

Обща информация

Description

Клетъчната линия TMD8 е модел на човешки дифузен едроклетъчен В-лимфом (DLBCL), който е представител на подтипа ABC (activated B-cell-like). Този подтип се характеризира с конститутивно активиране на пътя NF-κB, който е от съществено значение за оцеляването на клетките. TMD8 показва див тип CARD11, но въпреки това поддържа силна NF-κB активност, което показва зависимост от хронично активен В-клетъчен рецептор (BCR). Тази зависимост се подкрепя от експериментални данни, показващи, че отстраняването на компонентите на BCR пътя - включително BTK, CD79A, CD79B и IgM - води до клетъчна смърт в клетките на TMD8. Освен това TMD8 притежава мутация Y196H в ITAM домейна на CD79B - мутация, често срещана в ABC-DLBCL, която повишава повърхностната BCR експресия и отслабва отрицателната обратна връзка от Lyp киназата, като по този начин насърчава устойчивата сигнална активност.

Клетките TMD8 също така демонстрират забележителна чувствителност към инхибиране на BCL-2 чрез venetoclax, когато експресират високи нива на протеина BCL-2. Въпреки това резистентността към venetoclax в такива клетки може да се дължи на активиране на пътя PI3K/AKT, особено след продължително излагане на лекарството. Този механизъм на резистентност включва намаляване на експресията на PTEN и повишено фосфорилиране на AKT. Клетките TMD8 с придобита резистентност към venetoclax проявяват повишена чувствителност към фармакологично инхибиране на пътя PI3K/AKT, което ги прави подходящ модел за изучаване на терапевтични комбинации, насочени към преодоляване на резистентността при агресивни В-клетъчни лимфоми.

Organism

Човек

Tissue

Костен мозък

Disease

Дифузен едроклетъчен В-лимфом, активиран В-клетъчен тип

Synonyms

TMD-8, Токио Медицински и стоматологичен университет 8

Характеристики

Age

62 години

Gender

Мъжки

Ethnicity

Японски

Growth properties

Окачване

Регулаторни данни

Клетки TMD8 | 305729

Citation TMD8 (каталожен номер 305729 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A442

Биомолекулярни данни

Mutational profile Мутация: CD79B, проста, p.Tyr196His (c.586T>C), хетерозиготна, M годиниD88, проста, p.Leu252Pro (c.755T>C) (L265P), хетерозиготна

Работа с

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820700a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Doubling time ~30 часа

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки TMD8 | 305729

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки TMD8 | 305729

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.