

Lama-84 Cells | 300261

Obecné informace

Description

LAMA-84 je lidská buněčná linie získaná z periferní krve pacienta s chronickou myeloidní leukémií (CML) v blastické krizi. Tato buněčná linie se vyznačuje přítomností filadelfského chromozomu, který vede k fúznímu genu BCR-ABL, což je charakteristický znak CML. Onkogen BCR-ABL je známý svou úlohou při zvyšování tyrozinkinázové aktivity, která podporuje různé signální dráhy vedoucí k nekontrolované buněčné proliferaci a rezistenci vůči apoptóze. Buňky LAMA-84 jsou proto neocenitelným modelem pro studium molekulárních mechanismů progresu CML a pro hodnocení účinnosti inhibitorů tyrozinkinázy (TKI) v preklinickém prostředí.

Ve výzkumu se buňky LAMA-84 hojně využívají k pochopení biologie CML, zejména v souvislosti s rezistencí na léky a vývojem onemocnění. Studie zahrnující tuto buněčnou linii pomohly objasnit buněčné reakce na různé generace TKI, jako je imatinib, dasatinib a nilotinib. LAMA-84 navíc přispěla ke zkoumání nových terapeutických strategií zaměřených na překonání rezistence vůči TKI, včetně testování kombinovaných terapií, které se zaměřují na další signální dráhy synergicky ovlivněné fúzním proteinem BCR-ABL.

Organism

Člověk

Tissue

Krev

Disease

Chronická myeloidní leukémie

Synonyms

LAMA-84, LAMA84, Lama84

Charakteristika

Age

29 let

Gender

Ženy

Ethnicity

Kavkazský

Morphology

Kulaté buňky

Growth properties

Suspenze, některé adherentní buňky

Regulační údaje

Citation

Lama-84 (katalogové číslo Cytion 300261)

Biosafety level

1

Lama-84 Cells | 300261

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0388

Biomolekulární data

Surface antigens GPIIb/IIIa+, GPIIIa+

Viruses EBNA, EA a VCA nebyly zjištěny

Mutational profile BCR-ABL1 pos

ZpracováníCulture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)

Supplements Doplněte médium o 10 % tepelně inaktivovaného FBS

Doubling time 30 hodin

Subculturing Buňky ulpívající na dně kultivační baňky lze uvolnit protřepáním. Kultivace udržujte pravidelným přidáváním nebo výměnou média. Kultivace zahajte s hustotou 5×10^5 buněk/ml a pro optimální růst udržujte koncentraci buněk v rozmezí 3×10^5 až 1×10^6 buněk/ml.

Split ratio Doporučuje se poměr 1:2 až 1:3

Seeding density 1 až 2×10^4 buněk/cm²Post-Thaw Recovery Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Lama-84 Cells | 300261

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při $300 \times g$ po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Lama-84 Cells | 300261**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

CSF1PO: 11,12,13
D13S317: 11
D16S539: 11
D5S818: 11,12
D7S820: 11
TH01: 6,7
TPOX: 10
vWA: 14,17
D3S1358: 14,17
D21S11: 29,30,31
D18S51: 13
Penta E: 7
Penta D: 10
D8S1179: 10,15
FGA: 21,22
D1S1656: 15,15.3
D6S1043: 10,20
D2S1338: 17
D12S391: 18,24
D19S433: 13

Alely HLA

A*: '02:01:01, '25:01:01
B*: '18:01:01, '44:02:01
C*: '05:01:01, '12:03:01
DRB1*: '04:02:01, '15:01:01G
DQA1*: '01:02:01, '03:01:01
DQB1*: '03:02:01, '06:02:01
DPB1*: '09:01:01, '23:01:01
E: '01:01:01