

Κύτταρα TMD8 | 305729

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά TMD8 είναι ένα ανθρώπινο μοντέλο διάχυτου λεμφώματος μεγάλων Β-κυττάρων (DLBCL), αντιπροσωπευτικό του υποτύπου ABC (activated B-cell-like). Αυτός ο υπότυπος χαρακτηρίζεται από συνισταμένη ενεργοποίηση του μονοπατιού NF-κΒ, το οποίο είναι απαραίτητο για την επιβίωση των κυττάρων. Το TMD8 παρουσιάζει CARD11 άγριου τύπου, ωστόσο διατηρεί ισχυρή δραστηριότητα NF-κΒ, υποδεικνύοντας εξάρτηση από τη σηματοδότηση του χρόνιου ενεργού υποδοχέα Β-κυττάρων (BCR). Η εξάρτηση αυτή υποστηρίζεται από πειραματικά στοιχεία που δείχνουν ότι η μείωση των συστατικών του μονοπατιού BCR - συμπεριλαμβανομένων των BTK, CD79A, CD79B και IgM- οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο στα κύτταρα TMD8. Επιπλέον, το TMD8 φέρει μια μετάλλαξη Y196H στην περιοχή ITAM του CD79B, μια μετάλλαξη που απαντάται συνήθως στα ABC-DLBCLs, η οποία ενισχύει την έκφραση του επιφανειακού BCR και εξασθενεί την αρνητική ανατροφοδότηση από την κινάση Lyn, προωθώντας έτσι τη συνεχή σηματοδοτική δραστηριότητα.

Τα κύτταρα TMD8 επιδεικνύουν επίσης αξιοσημείωτη ευαισθησία στην αναστολή της BCL-2 μέσω του venetoclax όταν εκφράζουν υψηλά επίπεδα της πρωτεΐνης BCL-2. Ωστόσο, η αντίσταση στο venetoclax σε αυτά τα κύτταρα μπορεί να μεσολαβείται από την ενεργοποίηση του μονοπατιού PI3K/AKT, ιδίως μετά από παρατεταμένη έκθεση στο φάρμακο. Αυτός ο μηχανισμός αντίστασης περιλαμβάνει μείωση της έκφρασης του PTEN και αυξημένη φωσφορύλιωση του AKT. Τα κύτταρα TMD8 με επίκτητη αντίσταση στο venetoclax παρουσιάζουν αυξημένη ευαισθησία στη φαρμακολογική αναστολή του μονοπατιού PI3K/AKT, καθιστώντας τα κατάλληλο μοντέλο για τη μελέτη θεραπευτικών συνδυασμών με στόχο την υπέρβαση της αντίστασης στα επιθετικά λεμφώματα Β-κυττάρων.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Μυελός των οστών

Disease

Διάχυτο λέμφωμα μεγάλων Β-κυττάρων ενεργοποιημένου τύπου Β-κυττάρων

Synonyms

TMD-8, Ιατρικό και Οδοντιατρικό Πανεπιστήμιο του Τόκιο 8

Χαρακτηριστικά

Age

62 χρόνια

Gender

Άντρας

Ethnicity

Ιαπωνικά

Growth properties

Αναστολή

Ρυθμιστικά δεδομένα

Κύτταρα TMD8 | 305729

Citation TMD8 (αριθμός καταλόγου Cytion 305729)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A442

Βιομοριακά δεδομένα

Mutational profile Μετάλλαξη: Tyr196His (c.586T>C), ετερόζυγος, M yearsD88, απλό, p.Leu252Pro (c.755T>C) (L265P), ετερόζυγος

Χειρισμός

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Doubling time ~30 ώρες

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα TMD8 | 305729**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα TMD8 | 305729

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.