

TMD8 rakud | 305729

Üldine teave

Description

TMD8 rakuliin on inimese difuusse suure B-rakulise lümfoomi (DLBCL) mudel, mis esindab aktiveeritud B-rakkude sarnast (ABC) alatüüpi. Seda alatüüpi iseloomustab rakkude ellujäämiseks olulise NF-κB raja konstitutiivne aktiveerimine. TMD8 omab metsikut tüüpi CARD11, kuid säilitab siiski tugeva NF-κB aktiivsuse, mis näitab sõltuvust kroonilisest aktiivsest B-rakkude retseptori (BCR) signalisatsioonist. Seda sõltuvust toetavad eksperimentaalsed tõendid, mis näitavad, et BCR-tee komponentide - sealhulgas BTK, CD79A, CD79B ja IgM - väljalülitamine põhjustab TMD8 rakkude rakusurma. Lisaks sellele on TMD8-l CD79B ITAM-domeenis Y196H mutatsioon, mis on levinud ABC-DLBCL-domeenides, mis suurendab BCR-pinna ekspressiooni ja vähendab Lyn-kinase negatiivset tagasisidet, soodustades seega püsivat signaaliaktiivsust.

TMD8 rakud näitavad ka märkimisväärset tundlikkust BCL-2 inhibeerimise suhtes venetoklaxi abil, kui nad ekspresseerivad BCL-2 valku suurel määral. Resistentsus venetoklaxi suhtes võib sellistes rakkudes siiski olla tingitud PI3K/AKT raja aktiveerimisest, eriti pärast pikaajalist ravimiga kokkupuudet. See resistentsusmehhanism hõlmab PTENi ekspressiooni vähenemist ja AKT-fosforüleerimise suurenemist. TMD8 rakud, millel on omandatud resistentsus venetoklaxi suhtes, on tundlikumad farmakoloogilise PI3K/AKT raja inhibeerimise suhtes, mistõttu on nad sobiv mudel ravikombinatsioonide uurimiseks, mille eesmärk on resistentsuse ületamine agressiivsete B-rakkude lümfoomide puhul.

Organism

Inimene

Tissue

Luuüdi

Disease

Difuusne suur B-rakuline lümfoom aktiveeritud B-rakuline tüüp

Synonyms

TMD-8, Tokyo meditsiini- ja hambaarstiteaduskond 8

Omadused

Age

62 aastat

Gender

Mees

Ethnicity

Jaapani

Growth properties

Peatamine

Regulatiivsed andmed

Citation

TMD8 (Cytioni katalooginumbr 305729)

TMD8 rakud | 305729

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A442**Biomolekulaarsed andmed****Mutational profile** Mutatsioon: CD79B, Simple, p.Tyr196His (c.586T>C), heterosügootne, M aastatD88, Simple, p.Leu252Pro (c.755T>C) (L265P), heterosügootne**Töötlemine****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Doubling time** ~30 tundi**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

TMD8 rakud | 305729

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

TMD8 rakud | 305729

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.