Product sheet

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 kataloginumber 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 viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °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 viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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°C, 5% $_{CO2}$, 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 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

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 ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.