

TMD8-solut | 305729

Yleisiä tietoja

Description

TMD8-solulinja on ihmisen diffuusi suurisolainen B-solulymfooma (DLBCL), joka edustaa aktivoitujen B-solujen kaltaista (ABC) alatyyppeä. Tälle alatyypille on ominaista solujen eloonjäämisen kannalta olennaisen tärkeän NF- κ B-reitin konstitutiivinen aktivoituminen. TMD8:lla on villityyppinen CARD11, mutta se säilyttää voimakkaan NF- κ B-aktiivisuuden, mikä osoittaa riippuvuutta kroonisesti aktiivisesta B-solureseptorin (BCR) signaloinnista. Tätä riippuvuutta tukevat kokeelliset todisteet, jotka osoittavat, että BCR-reitin komponenttien, kuten BTK:n, CD79A:n, CD79B:n ja IgM:n, tyrmäys johtaa solukuolemaan TMD8-soluissa. Lisäksi TMD8:ssa on Y196H-mutaatio CD79B:n ITAM-domeenissa, mutaatio, jota tavataan yleisesti ABC-DLBCL-soluissa ja joka lisää BCR:n pintaekspressiota ja heikentää Lyn-kinaasin negatiivista palautetta, mikä edistää jatkuvaa signalointiaktiivisuutta.

TMD8-solut osoittavat myös huomattavaa herkkyyttä BCL-2:n estolle venetoklaxin avulla, kun BCL-2-proteiinia ilmenee runsaasti. Tällaisten solujen venetoklaxiresistenssi voi kuitenkin johtua PI3K/AKT-reitin aktivoitumisesta, erityisesti pitkäaikaisen lääkealtistuksen jälkeen. Tähän resistenssimekanismiin liittyy PTEN-ekspression väheneminen ja lisääntynyt AKT-fosforylaatio. TMD8-solut, joilla on hankittu resistenssi venetoklaxille, ovat herkempiä farmakologiselle PI3K/AKT-reitin estolle, joten ne ovat sopiva malli aggressiivisten B-solulymfoomien resistenssin voittamiseen tähtäävien terapeuttien yhdistelmien tutkimiseen.

Organism Ihminen

Tissue Luuydin

Disease Diffuusi suurisolainen B-solulymfooma aktivoitu B-solutyyppi

Synonyms TMD-8, Tokion lääketieteellinen ja hammaslääketieteellinen yliopisto 8

Ominaisuudet

Age 62 vuotta

Gender Mies

Ethnicity Japanilainen

Growth properties Jousitus

Säätelytiedot

Citation TMD8 (Cytionin luettelonumero 305729)

TMD8-solut | 305729

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A442**Biomolekyylitiedot****Mutational profile** Mutaatio: Tyr196His (c.586T>C), heterotsygoottinen, M vuottaD88, yksinkertainen, p.Leu252Pro (c.755T>C) (L265P), heterotsygoottinen**Käsittely****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Doubling time** ~30 tuntia**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

TMD8-solut | 305729

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvaa, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

TMD8-solut | 305729

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.