

Lama-84 sejtek | 300261

Általános információk

Description

A LAMA-84 egy humán sejtvonat, amely egy krónikus myeloid leukémiás (CML) beteg perifériás véréből származik. Ezt a sejtvonatot a Philadelphia-kromoszóma jelenléte jellemzi, amely a BCR-ABL fúziós gént eredményezi, ami a CML egyik jellemzője. A BCR-ABL onkogén a tirozinkináz-aktivitás növelésében játszott szerepéről ismert, amely elősegíti a különböző jelátviteli útvonalakat, amelyek a sejtek ellenőrizetlen proliferációjához és az apoptózissal szembeni rezisztenciához vezetnek. A LAMA-84 sejtek így felbecsülhetetlen értékű modellnek számítanak a CML progressziójának molekuláris mechanizmusainak tanulmányozásához és a tirozinkináz-gátlók (TKI-k) hatékonyságának preklinikai értékeléséhez.

A kutatásban a LAMA-84-et széles körben használták a CML biológiájának megértésére, különösen a gyógyszerrezisztencia és a betegség evolúciójának összefüggésében. Az ezen a sejtvonaton végzett vizsgálatok segítettek a TKI-k különböző generációira, például az imatinibre, a dasatinibre és a nilotinibre adott sejtválaszok tisztázásában. A LAMA-84 továbbá hozzájárult a TKI-rezisztencia leküzdését célzó új terápiás stratégiák vizsgálatához, beleértve a BCR-ABL fúziós fehérje által szinergikusan befolyásolt egyéb jelátviteli útvonalakat célzó kombinált terápiák tesztelését.

Organism

Emberi

Tissue

Vér

Disease

Krónikus myeloid leukémia

Synonyms

LAMA-84, LAMA84, Lama84, Lama84

Jellemzők

Age

29 év

Gender

Női

Ethnicity

Kaukázusi

Morphology

Kerek cellák

Growth properties

Szuszpenzió, néhány adherens sejt

Szabályozási adatok

Citation

Lama-84 (Cytion katalógusszám: 300261)

Lama-84 sejtek | 300261

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0388

Biomolekuláris adatok

Surface antigens GPIIb/IIIa+, GPIIIa+

Viruses EBNA-t, EA-t és VCA-t nem mutattak ki

Mutational profile BCR-ABL1 pos

A kezelése

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion 820700a cikkszám)

Supplements A táptalajt 10% hővel inaktivált FBS-szel egészítsük ki

Doubling time 30 óra

Subculturing A sejtkultúra-lombik aljára tapadó sejtek rázásal eltávolíthatók. A kultúrákat rendszeresen táptalaj hozzáadásával vagy cseréjével kell fenntartani. A kultúrákat 5×10^5 sejt/ml sűrűséggel kell elindítani, és az optimális növekedés érdekében a sejtkoncentrációt 3×10^5 és 1×10^6 sejt/ml között kell tartani.Seeding density $1-2 \times 10^4$ sejt/cm²Post-Thaw Recovery Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Lama-84 sejtek | 300261

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Lama-84 sejtek | 300261

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

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