

Lama-84 ląstelės | 300261

Bendra informacija

Description

LAMA-84 yra žmogaus ląstelių linija, gauta iš paciento, sergančio lėtine mieloidine leukemija (LML) blastinėje krizėje, periferinio kraujo. Šiai ląstelių linijai būdinga tai, kad joje yra Filadelfijos chromosoma, dėl kurios susilieja BCR-ABL genas, o tai yra būdingas CML požymis. BCR-ABL onkogenas žinomas dėl savo vaidmens didinant tirozinkinazės aktyvumą, kuris skatina įvairius signalinius kelius, lemiančius nekontroliuojamą ląstelių dauginimąsi ir atsparumą apoptozei. Todėl LAMA-84 ląstelės yra neįkainojamas modelis tiriant CML progresavimo molekulinis mechanizmus ir vertinant tirozinkinazės inhibitorių (TKI) veiksmingumą ikiklinikinėje aplinkoje.

Moksliniuose tyrimuose LAMA-84 ląstelės plačiai naudojamos siekiant suprasti CML biologiją, ypač atsparumo vaistams ir ligos evoliucijos kontekste. Tyrimai su šia ląstelių linija padėjo išsiaiškinti ląstelių atsaką į įvairių kartų TKI, pavyzdžiui, imatinibą, dasatinibą ir nilotinibą. Be to, LAMA-84 padėjo ištirti naujas gydymo strategijas, kuriomis siekiama įveikti atsparumą TKI, įskaitant kombinuotų gydymo metodų, nukreiptų į kitus signalinius kelius, kuriuos sinergiškai veikia BCR-ABL sintezės baltymas, tyrimus.

Organism

Žmogus

Tissue

Kraujas

Disease

Lėtinė mieloidinė leukemija

Synonyms

LAMA-84, LAMA84, Lama84

Charakteristikos

Age

29 metai

Gender

Moteris

Ethnicity

Kaukaziečių

Morphology

Apvalios ląstelės

Growth properties

Suspensija, kai kurios prilipusios ląstelės

Reguliavimo duomenys

Citation

Lama-84 (Cytion katalogo numeris 300261)

Biosafety level

1

Lama-84 ląstelės | 300261

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0388

Biomolekuliniai duomenys

Surface antigens GPIIb/IIIa+, GPIIIa+

Viruses EBNA, EA ir VCA neaptikta

Mutational profile BCR-ABL1 pos

Tvarkymas

Culture Medium RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)

Supplements Papildykite terpę 10 % termiškai inaktyvuoto FBS

Doubling time 30 valandų

Subculturing Prie ląstelių kultūros kolbos dugno prilipusias ląsteles galima nuplauti kratant. Kultūras prižiūrėkite periodiškai papildydami arba keisdami terpę. Kultūras pradėkite su 5×10^5 ląstelių/ml tankiu ir, siekdami optimalaus augimo, išlaikykite ląstelių koncentraciją nuo 3×10^5 iki 1×10^6 ląstelių/ml.Seeding density $1-2 \times 10^4$ ląstelės/cm²Post-Thaw Recovery Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5×10^4 ląstelių/cm² tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Lama-84 ląstelės | 300261

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Lama-84 ląstelės | 300261

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

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