Product sheet

TMD8 ląstelės | 305729

Bendra informacija

Description	TMD8 ląstelių linija yra žmogaus difuzinės stambiųjų B ląstelių limfomos (DLBCL) modelis, atstovaujantis aktyvuotų B ląstelių (ABC) potipiui. Šiam potipiui būdingas konstitutyvus NF-κB kelio, kuris yra būtinas ląstelių išlikimui, aktyvavimas. TMD8 pasižymi laukinio tipo CARD11, tačiau išlaiko stiprų NF-κB aktyvumą, o tai rodo priklausomybę nuo lėtinio aktyvaus B ląstelių receptoriaus (BCR) signalo. Šią priklausomybę patvirtina eksperimentiniai įrodymai, rodantys, kad BCR kelio komponentų, įskaitant BTK, CD79A, CD79B ir IgM, nukabinimas lemia TMD8 ląstelių žūtį. Be to, TMD8 turi Y196H mutaciją CD79B ITAM domene - mutaciją, kuri dažnai aptinkama ABC-DLBCL ir dėl kurios padidėja BCR paviršiaus ekspresija bei susilpnėja neigiamas Lyn kinazės grįžtamasis ryšys, taip skatinant nuolatinį signalų aktyvumą. TMD8 ląstelės taip pat pasižymi dideliu jautrumu BCL-2 slopinimui naudojant venetoklaksą, kai jose yra didelis BCL-2 baltymo kiekis. Tačiau tokių ląstelių atsparumą venetoklaksui gali lemti PI3K/AKT kelio aktyvinimas, ypač po ilgesnio vaisto poveikio. Šis atsparumo mechanizmas apima PTEN raiškos sumažėjimą ir padidėjusį AKT fosforilinimą. TMD8 ląstelės, turinčios įgytą atsparumą venetoklaksui, pasižymi padidintu jautrumu farmakologiniam PI3K/AKT kelio slopinimui, todėl jos yra tinkamas modelis tirti terapinius derinius, kuriais siekiama įveikti agresyvių B ląstelių limfomų atsparumą.
Organism	Žmogus
Tissue	Kaulų čiulpai
Disease	Difuzinė stambiųjų B-ląstelių limfoma, aktyvuotas B ląstelių tipas
Synonyms	TMD-8, Tokijo medicinos ir odontologijos universitetas 8

Charakteristikos

Age	62 metai
Gender	Vyras
Ethnicity	Japonų
Growth properties	Pakaba

Reguliavimo duomenys

Citation	TMD8 (Cytion katalogo numeris 305729)
Biosafety level	1

TMD8 ląstelės | 305729

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A442

Biomolekuliniai duomenys

Mutational profile	Mutacija: CD79B, paprasta, p.Tyr196His (c.586T>C), heterozigotinė, M metųD88, paprasta, p.Leu252Pro (c.755T>C) (L265P), heterozigotinė

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 % FBS
Doubling time	~30 valandų
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.

TMD8 ląstelės | 305729

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 °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 °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 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

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.

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 skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

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.