

TMD8 šūnas | 305729

Vispārīga informācija

Description

TMD8 šūnu līnija ir cilvēka difūzās lielo B šūnu limfomas (DLBCL) modelis, kas pārstāv aktivēto B šūnu (ABC) apakštipu. Šim apakštipam raksturīga konstitīva NF-κB ceļa aktivācija, kas ir būtiska šūnu izdzīvošanai. TMD8 piemīt savvaļas tipa CARD11, tomēr tā saglabā spēcīgu NF-κB aktivitāti, kas norāda uz atkarību no hroniski aktīvas B-šūnu receptoru (BCR) signalizācijas. Šo atkarību apstiprina eksperimentāli pierādījumi, kas liecina, ka BCR ceļa komponentu, tostarp BTK, CD79A, CD79B un IgM, nomākšana izraisa TMD8 šūnu nāvi. Turklāt TMD8 piemīt Y196H mutācija CD79B ITAM domēnā - mutācija, kas bieži sastopama ABC-DLBCL, kas pastiprina virsmas BCR ekspresiju un vājina Lyn kināzes negatīvo atgriezenisko saiti, tādējādi veicinot ilgstošu signalizācijas aktivitāti.

TMD8 šūnas arī izrāda ievērojamu jutību pret BCL-2 inhibīciju, izmantojot venetoklaksu, ja tās ekspresē augstu BCL-2 proteīna līmeni. Tomēr rezistenci pret venetoklaksu šādās šūnās var izraisīt PI3K/AKT ceļa aktivācija, īpaši pēc ilgstošas zāļu iedarbības. Šis rezistences mehānisms ietver PTEN ekspresijas samazināšanos un pastiprinātu AKT fosforilēšanu. TMD8 šūnām ar iegūtu rezistenci pret venetoklaksu piemīt paaugstināta jutība pret farmakoloģisku PI3K/AKT ceļa inhibīciju, padarot tās par piemērotu modeli terapeitisko kombināciju izpētei, lai pārvarētu rezistenci agresīvu B šūnu limfomu gadījumā.

Organism Cilvēks

Tissue Kaulu smadzenes

Disease Difūza lielšūnu B-šūnu limfoma, aktivizēts B-šūnu tips

Synonyms TMD-8, Tokijas Medicīnas un zobārstniecības universitāte 8

Raksturojums

Age 62 gadi

Gender Vīrieši

Ethnicity Japāņu

Growth properties Apturēšana

Normatīvie dati

Citation TMD8 (Cytion kataloga numurs 305729)

Biosafety level 1

TMD8 šūnas | 305729

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A442

Biomolekulārie dati

Mutational profile Mutācija: CD79B, vienkārša, p.Tyr196His (c.586T>C), heterozigotiska, M yearsD88, vienkārša, p.Leu252Pro (c.755T>C) (L265P), heterozigotiska

Darbs ar

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Doubling time ~30 stundas

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

TMD8 šūnas | 305729

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

TMD8 šūnas | 305729

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.