

JVM-3 šūnas | 305266

Vispārīga informācija

Description

JVM-3 ir cilvēka B-šūnu prolimfocitiskās leukēmijas (B-PLL) šūnu līnija, kas izveidota no 73 gadus veca kaukāziešu izcelsmes vīrieša perifērās asins. Šī līnija aug suspensijā kā limfoblastoīdas šūnas vai nu atsevišķi, vai neblīvās kopās, un tā ir plaši izmantots B-PLL modelis — B-PLL ir reta un agresīva nobriedušo B-šūnu leukēmija. JVM-3 satur TP53 mutācijas (p.Pro1435Leu heterozigotiska un p.Lys601Asn heterozigotiska), kas inaktivē p53 audzēja supresora funkciju un ir saistītas ar rezistenci pret ķīmijterapiju B šūnu ļaundabīgajos audzējos. Šo līniju kultivē 90 % RPMI 1640 + 10 % ar karstumu inaktivētā FBS.

JVM-3 ir piemērota B-PLL pētījumiem, tostarp pētījumiem par nobriedušo B-šūnu leukēmijas bioloģiju, ar TP53 mutācijām saistīto rezistenci pret zālēm, BCR signālceļa analīzi, mērķtiecīgo terapiju novērtēšanu (BTK inhibitori, venetoklaks, CD20 mērķa antivielas) novērtēšanu, kā arī farmakoloģiskajā zāļu skrīningā attiecībā uz B šūnu ļaundabīgajiem audzējiem. To izmanto arī B šūnu leukēmijas apakštipu salīdzinošajos pētījumos un kā ksenotransplantāta modeli imūndeficītiem pacientiem.

Organism

Cilvēks

Tissue

Perifērās asinis

Disease

B-šūnu prolimfocitiskā leukēmija

Metastatic site

Perifērā asins (leikēmijas)

Applications

B-šūnu prolimfocitiskās leukēmijas pētījumi; nobriedušo B-šūnu leukēmijas bioloģija; TP53 mutāciju izraisīta zāļu rezistence; BTK inhibitoru novērtēšana; jutība pret venetoklaksu; CD20 mērķa antivielu testēšana; B-šūnu leukēmijas zāļu skrīnings

Synonyms

JVM3

Raksturojums

Age

73 gadi

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

limfoblastoīdas šūnas, kas suspensijā aug atsevišķi vai kopā grupās;

Cell type

B limfoblasts

JVM-3 šūnas | 305266

Growth properties apturēšana

Normatīvie dati

Citation JVM-3 (Cytion kataloga numurs 305266)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1320

Biomolekulārie dati

Mutational profile Mutācija: p.Pro1435Leu, heterozigota; Mutācija: p.Lys601Asn, heterozigota

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% termiski inaktivētu FBS

Dissociation Reagent Nav nepieciešams (suspensijas kultūra)

Doubling time ~30 stundas

Subculturing Ik pēc 2–3 dienām kultūru atšķaidiet līdz $2-5 \times 10^5$ šūnu/ml, izmantojot svaigu, iepriekš uzsildītu pilnvērtīgu barotni. Pirms pārstādīšanas saskaitiet dzīvotspējīgās šūnas. Vajadzības gadījumā barotnes nomaiņai var izmantot centrifugēšanu (300×g, 5 min).

Split ratio no 1 līdz 3

Seeding density 3 līdz 5×10^5 šūnas/ml

Fluid renewal Ik pēc 2 līdz 3 dienām

JVM-3 šūnas | 305266

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.

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 pārnēsiet 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 pārnēsāt 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%_{CO2}, mitrināta atmosfēra.

Shipping Conditions

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

JVM-3 šūnas | 305266

**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 starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze