

Lama-84-celler | 300261

Generell informasjon

Description

LAMA-84 er en human cellelinje som stammer fra perifert blod fra en pasient med kronisk myeloid leukemi (KML) i blastkrise. Denne cellelinjen kjennetegnes av tilstedeværelsen av Philadelphiakromosomet, som resulterer i fusjonsgenet BCR-ABL, et kjennetegn ved KML. BCR-ABL-onkogenet er kjent for sin rolle i å øke tyrosinkinaseaktiviteten, noe som fremmer ulike signalveier som fører til ukontrollert celleproliferasjon og resistens mot apoptose. LAMA-84-celler er derfor en uvurderlig modell for å studere de molekylære mekanismene bak utviklingen av KML og for å evaluere effekten av tyrosinkinasehemmere (TKI-er) i en preklinisk setting.

LAMA-84 har vært mye brukt i forskningen for å forstå KMLs biologi, spesielt i forbindelse med legemiddelresistens og sykdomsutvikling. Studier med denne cellelinjen har bidratt til å belyse den cellulære responsen på ulike generasjoner av TKI-er, som imatinib, dasatinib og nilotinib. LAMA-84 har dessuten bidratt til utforskningen av nye behandlingsstrategier for å overvinne TKI-resistens, inkludert testing av kombinasjonsbehandlinger som retter seg mot andre signalveier som påvirkes synergistisk av BCR-ABL-fusjonsproteinet.

Organism

Menneskelig

Tissue

Blod

Disease

Kronisk myeloid leukemi

Synonyms

LAMA-84, LAMA84, Lama84

Kjennetegn

Age

29 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Runde celler

Growth properties

Suspensjon, noen adherente celler

Regulatoriske data

Citation

Lama-84 (Cytion-katalognummer 300261)

Lama-84-celler | 300261**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0388**Biomolekylære data****Surface antigens** GPIIb/IIIa+, GPIIIa+, GPIIIa**Viruses** EBNA, EA og VCA ble ikke påvist**Mutational profile** BCR-ABL1 pos**Håndtering****Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % varmeinaktivert FBS**Doubling time** 30 timer**Subculturing** Celler som fester seg til bunnen av cellekulturflasken kan løsnes ved å riste. Oppretthold kulturene ved å tilsette eller skifte ut mediet med jevne mellomrom. Start kulturene med en tetthet på 5×10^5 celler/ml og hold cellekonsentrasjonen innenfor området 3×10^5 til 1×10^6 celler/ml for optimal vekst.**Split ratio** Et forhold på 1:2 til 1:3 anbefales**Seeding density** 1 til 2×10^4 celler/cm²**Post-Thaw Recovery** Etter tining, plasser cellene på 5×10^4 celler/cm² og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

Lama-84-celler | 300261

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Lama-84-celler | 300261

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

CSF1PO: 11,12,13
D13S317: 11
D16S539: 11
D5S818: 11,12
D7S820: 11
TH01: 6,7
TPOX: 10
vWA: 14,17
D3S1358: 14,17
D21S11: 29,30,31
D18S51: 13
Penta E: 7
Penta D: 10
D8S1179: 10,15
FGA: 21,22
D1S1656: 15,15.3
D6S1043: 10,20
D2S1338: 17
D12S391: 18,24
D19S433: 13

HLA-alleler

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