

Komórki Lama-84 | 300261**Informacje ogólne****Description**

LAMA-84 jest ludzką linią komórkową pochodzącą z krwi obwodowej pacjenta z przewlekłą białaczką szpikową (CML) w kryzysie blastycznym. Ta linia komórkowa charakteryzuje się obecnością chromosomu Philadelphia, co skutkuje genem fuzyjnym BCR-ABL, cechą charakterystyczną CML. Onkogen BCR-ABL jest znany ze swojej roli w zwiększaniu aktywności kinazy tyrozynowej, która promuje różne szlaki sygnałowe prowadzące do niekontrolowanej proliferacji komórek i oporności na apoptozę. Komórki LAMA-84 są zatem nieocenionym modelem do badania molekularnych mechanizmów progresji CML i oceny skuteczności inhibitorów kinazy tyrozynowej (TKI) w warunkach przedklinicznych.

W badaniach, LAMA-84 była szeroko wykorzystywana do zrozumienia biologii CML, szczególnie w kontekście oporności na leki i ewolucji choroby. Badania z udziałem tej linii komórkowej pomogły w wyjaśnieniu odpowiedzi komórkowej na różne generacje TKI, takie jak imatynib, dasatynib i nilotynib. Co więcej, LAMA-84 przyczyniła się do zbadania nowych strategii terapeutycznych mających na celu przezwycięzenie oporności na TKI, w tym testowania terapii skojarzonych, które są ukierunkowane na inne szlaki sygnałowe, na które synergistycznie wpływa białko fuzyjne BCR-ABL.

Organism

Człowiek

Tissue

Krew

Disease

Przewlekła białaczka szpikowa

Synonyms

LAMA-84, LAMA84, Lama84

Charakterystyka**Age**

29 lat

Gender

Kobieta

Ethnicity

Kaukaski

Morphology

Okrągłe komórki

Growth properties

Zawiesina, niektóre przylegające komórki

Dane regulacyjne**Citation**

Lama-84 (numer katalogowy Cytion 300261)

Komórki Lama-84 | 300261**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0388**Dane biomolekularne****Surface antigens** GPIIb/IIIa+, GPIIIa+**Viruses** EBNA, EA i VCA nie zostały wykryte**Mutational profile** BCR-ABL1 poz**Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS inaktywowanym termicznie**Doubling time** 30 godzin**Subculturing** Komórki przylegające do dna kolby do hodowli komórkowej można usunąć poprzez wstrząsanie. Hodowle należy utrzymywać poprzez okresowe dodawanie lub wymianę pożywki. Hodowle należy rozpocząć od gęstości 5×10^5 komórek/ml i utrzymywać stężenie komórek w zakresie od 3×10^5 do 1×10^6 komórek/ml, aby uzyskać optymalny wzrost.**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:2 do 1:3**Seeding density** 1 do 2×10^4 komórek/cm²**Post-Thaw Recovery** Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki Lama-84 | 300261

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki Lama-84 | 300261

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

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

Komórki Lama-84 | 300261

Allele HLA

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