

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

Zawieszenie

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 NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 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/cm ²
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm ² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć 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

Brak

**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 czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki 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