

Komórki TMD8 | 305729

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa TMD8 jest ludzkim modelem chłoniaka rozlanego z dużych komórek B (DLBCL) reprezentatywnym dla podtypu aktywowanych komórek B (ABC). Podtyp ten charakteryzuje się konstytutywną aktywacją szlaku NF- κ B, który jest niezbędny do przeżycia komórek. TMD8 wykazuje dziki typ CARD11, ale utrzymuje silną aktywność NF- κ B, wskazując na zależność od przewlekłej aktywnej sygnalizacji receptora komórek B (BCR). Zależność ta jest poparta eksperymentalnymi dowodami wskazującymi, że knockdown składników szlaku BCR - w tym BTK, CD79A, CD79B i IgM - prowadzi do śmierci komórek TMD8. Dodatkowo, TMD8 są nosicielami mutacji Y196H w domenie ITAM CD79B, mutacji powszechnie występującej w ABC-DLBCL, która zwiększa powierzchnię ekspresji BCR i osłabia ujemne sprzężenie zwrotne z kinazą Lyn, promując w ten sposób trwałą aktywność sygnalizacyjną.

Komórki TMD8 wykazują również znaczną wrażliwość na hamowanie BCL-2 przez wenetoklaks, gdy wyrażają wysoki poziom białka BCL-2. Jednak oporność na wenetoklaks w takich komórkach może być pośredniczona przez aktywację szlaku PI3K/AKT, szczególnie po przedłużonej ekspozycji na lek. Ten mechanizm oporności obejmuje zmniejszenie ekspresji PTEN i zwiększoną fosforylację AKT. Komórki TMD8 z nabytą opornością na wenetoklaks wykazują zwiększoną podatność na farmakologiczne hamowanie szlaku PI3K/AKT, co czyni je odpowiednim modelem do badania kombinacji terapeutycznych mających na celu przezwycięzenie oporności w agresywnych chłoniakach z komórek B.

Organism

Człowiek

Tissue

Szpik kostny

Disease

Chłoniak rozlany z dużych komórek B typu aktywowanych komórek B

Synonyms

TMD-8, Tokijski Uniwersytet Medyczny i Stomatologiczny 8

Charakterystyka

Age

62 lata

Gender

Mężczyzna

Ethnicity

Japoński

Growth properties

Zawieszenie

Dane regulacyjne

Citation

TMD8 (numer katalogowy Cytion 305729)

Komórki TMD8 | 305729

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A442

Dane biomolekularne

Mutational profile Mutacja: CD79B, Simple, p.Tyr196His (c.586T>C), heterozygotyczna, M yearsD88, Simple, p.Leu252Pro (c.755T>C) (L265P), heterozygotyczna

Obsługa

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupełnić podłoże 10% FBS**Doubling time** ~30 godzin**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 TMD8 | 305729

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 zawiesinowych, 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 cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki TMD8 | 305729

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 i analiza molekularna

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.