

Komórki JVM-3 | 305266

Informacje ogólne

Description

JVM-3 to ludzka linia komórkowa białaczki prolimfocytowej z komórek B (B-PLL), wyhodowana z krwi obwodowej 73-letniego pacjenta rasy kaukaskiej. Linia ta rośnie w zawiesinie jako komórki limfoblastoidalne, pojedynczo lub w luźnych skupiskach, i stanowi szeroko stosowany model B-PLL, rzadkiej i agresywnej białaczki z dojrzałych komórek B. JVM-3 zawiera mutacje genu TP53 (heterozygotyczną p.Pro1435Leu oraz heterozygotyczną p.Lys601Asn), które dezaktywują funkcję supresorową p53 i są związane z opornością na chemioterapię w nowotworach złośliwych komórek B. Linia ta jest hodowana w pożywce składającej się z 90% RPMI 1640 i 10% FBS inaktywowanego termicznie.

Linia JVM-3 ma zastosowanie w badaniach nad B-PLL, w tym w badaniach nad biologią białaczki z dojrzałych komórek B, opornością na leki związaną z mutacjami TP53, analizą szlaku sygnałowego BCR, oceną terapii celowanych (inhibitory BTK, wenetoklaks, przeciwciała skierowane przeciwko CD20) oraz farmakologicznego przesiewania leków w przypadku nowotworów z komórek B. Wykorzystuje się ją również w badaniach porównawczych podtypów białaczki z komórek B oraz jako model przeszczepu heterogenicznego u biorców z obniżoną odpornością.

Organism

Człowiek

Tissue

Krew obwodowa

Disease

B-komórkowa białaczka prolimfocytowa

Metastatic site

Krew obwodowa (z białaczką)

Applications

Badania nad białaczką prolimfocytową komórek B; biologia białaczki z dojrzałych komórek B; oporność na leki związana z mutacją genu TP53; ocena inhibitorów BTK; wrażliwość na wenetoklaks; badania nad przeciwciałami skierowanymi przeciwko CD20; przesiewowe badania leków stosowanych w białaczkę komórek B

Synonyms

JVM3

Charakterystyka

Age

73 lata

Gender

Mężczyzna

Ethnicity

Kaukaski

Morphology

komórki limfoblastoidalne rosnące pojedynczo lub w skupiskach w zawiesinie;

Cell type

Limfoblast B

Komórki JVM-3 | 305266

Growth properties

zawieszenie

Dane regulacyjne

Citation JVM-3 (numer katalogowy Cytion 305266)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1320

Dane biomolekularne

Mutational profile Mutacja: p.Pro1435Leu, heterozygotyczna; Mutacja: p.Lys601Asn, heterozygotyczna

Obsługa

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzpełnić podłoże 10% FBS inaktywowanym termicznie**Dissociation Reagent** Nie jest wymagane (hodowla w zawiesinie)**Doubling time** ~30 godzin**Subculturing** Co 2–3 dni należy rozcieńczać hodowlę do stężenia $2-5 \times 10^5$ komórek/ml, dodając świeżą, wstępnie podgrzaną pożywkę kompletną. Przed przesadzeniem należy policzyć żywe komórki. W razie potrzeby do wymiany pożywki można zastosować wirowanie (300×g, 5 min).**Split ratio** od 1 do 3**Seeding density** od 3 do 5×10^5 komórek/ml**Fluid renewal** Co 2 do 3 dni

Komórki JVM-3 | 305266**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.

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.

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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki JVM-3 | 305266

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