

Células TMD8 | 305729

Informações gerais

Description

A linha celular TMD8 é um modelo humano de linfoma difuso de grandes células B (DLBCL) representativo do subtipo ABC (activated B-cell-like). Este subtipo é caracterizado pela ativação constitutiva da via NF- κ B, que é essencial para a sobrevivência celular. O TMD8 apresenta CARD11 de tipo selvagem, mas mantém uma forte atividade de NF- κ B, indicando uma dependência da sinalização crônica ativa do recetor de células B (BCR). Esta dependência é apoiada por provas experimentais que demonstram que a supressão dos componentes da via BCR - incluindo BTK, CD79A, CD79B e IgM - conduz à morte celular nas células TMD8. Além disso, as células TMD8 apresentam uma mutação Y196H no domínio ITAM do CD79B, uma mutação comumente encontrada nas células ABC-DLBCL que aumenta a expressão dos BCR de superfície e atenua o feedback negativo da quinase Lyn, promovendo assim uma atividade de sinalização sustentada.

As células TMD8 também demonstram uma sensibilidade notável à inibição da BCL-2 através do venetoclax quando expressam níveis elevados da proteína BCL-2. No entanto, a resistência ao venetoclax nestas células pode ser mediada pela ativação da via PI3K/AKT, particularmente após exposição prolongada ao fármaco. Este mecanismo de resistência envolve uma redução da expressão de PTEN e um aumento da fosforilação de AKT. As células TMD8 com resistência adquirida ao venetoclax apresentam uma maior suscetibilidade à inibição farmacológica da via PI3K/AKT, o que as torna um modelo adequado para o estudo de combinações terapêuticas destinadas a ultrapassar a resistência em linfomas agressivos de células B.

Organism

Humano

Tissue

Medula óssea

Disease

Linfoma difuso de grandes células B do tipo células B activadas

Synonyms

TMD-8, Universidade Médica e Dentária de Tóquio 8

Caraterísticas

Age

62 anos

Gender

Masculino

Ethnicity

Japonês

Growth properties

Suspensão

Dados regulamentares

Citation

TMD8 (número de catálogo Cytion 305729)

Células TMD8 | 305729**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_A442**Dados biomoleculares****Mutational profile** Mutação: CD79B, Simples, p.Tyr196His (c.586T>C), Heterozigótico, M anosD88, Simples, p.Leu252Pro (c.755T>C) (L265P), Heterozigótico**Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO3 (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Doubling time** ~30 horas**Freeze medium** Como meio de criopreserva o, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recupera o e reduzir o stress induzido pela crio.

Células TMD8 | 305729

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células TMD8 | 305729

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.