

TMD8-celler | 305729

Allmän information

Description

TMD8-cellinjen är en human modell av diffust storcelligt B-cellslymfom (DLBCL) som representerar den aktiverade B-cellsliknande (ABC) subtypen. Denna subtyp kännetecknas av konstitutiv aktivering av NF- κ B-vägen, som är nödvändig för cellöverlevnad. TMD8 uppvisar CARD11 av vildtyp, men bibehåller ändå en stark NF- κ B-aktivitet, vilket tyder på ett beroende av kronisk aktiv BCR-signalering (B-cellsreceptor). Detta beroende stöds av experimentella bevis som visar att knockdown av komponenter i BCR-signalvägen - inklusive BTK, CD79A, CD79B och IgM - leder till celldöd i TMD8-celler. TMD8 har dessutom en Y196H-mutation i ITAM-domänen hos CD79B, en mutation som är vanlig hos ABC-DLBCL och som ökar BCR-uttrycket på ytan och dämpar den negativa återkopplingen från Lyn-kinas, vilket främjar en bibehållen signalaktivitet.

TMD8-celler uppvisar också en anmärkningsvärd känslighet för BCL-2-hämning via venetoclax när de uttrycker höga nivåer av BCL-2-proteinet. Resistens mot venetoclax i sådana celler kan dock medieras genom aktivering av PI3K/AKT-vägen, särskilt efter långvarig läkemedelsexponering. Denna resistensmekanism innebär en minskning av PTEN-uttrycket och ökad AKT-fosforylering. TMD8-celler med förvärvad resistens mot venetoclax uppvisar en ökad känslighet för farmakologisk hämning av PI3K/AKT-vägen, vilket gör dem till en lämplig modell för att studera terapeutiska kombinationer som syftar till att övervinna resistens i aggressiva B-cellslymfom.

Organism Människan

Tissue Benmärg

Disease Diffust storcelligt B-cellslymfom av aktiverad B-cellstyp

Synonyms TMD-8, Tokyo Medical and Dental university 8

Egenskaper

Age 62 år

Gender Man

Ethnicity Japanska

Growth properties Avstängning

Lagstadgade uppgifter

Citation TMD8 (Cytion katalognummer 305729)

Biosafety level 1

TMD8-celler | 305729

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_A442

Biomolekylära data

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

Hantering

Culture Medium RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)

Supplements Komplettera mediet med 10% FBS

Doubling time ~30 timmar

Freeze medium Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

TMD8-celler | 305729

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

TMD8-celler | 305729

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.