

RS4:11 Rakud | 305360

Üldine teave

Description

RS4:11 rakuliin on saadud 32-aastaselt naispatsiendilt, kellel oli retsidiivne äge lümfoblastiline leukeemia (ALL), mida iseloomustab t(4:11)(q21;q23) kromosomaalne translokatsioon. Selle translokatsiooni tulemuseks on **KMT2A-AFF1 (varem MLL-AF4)** fusioonigeeni moodustumine, mis on selle leukeemia alatüübi tunnusjooneks. RS4:11 rakkudel on bifenotüüpne profiil, mis peegeldab nii B-rakkude kui ka monotsüütide markereid, mis peegeldab selle geneetilise ümberpaiknemisega kaasnevaid segaliini omadusi. Seda rakuliini kasutatakse laialdaselt mudelina KMT2A-reguleeritud leukeemiate bioloogia mõistmiseks, mida seostatakse agressiivse haiguse ja halva prognoosiga.

RS4:11 rakkudel on B-eelsetele lümfoblastidele iseloomulikud tunnused, sealhulgas selliste markerite nagu CD19, HLA-DR ja terminaalne desoksünukleotidültransferaas (TdT) ekspressioon koos ümberpaigutatud raskete ja kergete immunoglobuliini ahelate geenidega. Huvitaval kombel võtavad RS4:11 rakud diferentseerumist esile kutsuvate ainetega (nt forbool-estritega) töötades vastu monotsüütide sarnase fenotüübi, mis näitab nende liiniplastilisust. See omadus muudab rakuliini eriti väärtuslikuks diferentseerumise ja liini määramise molekulaarsete tegurite uurimiseks leukeemia puhul.

Geneetiliselt häirib t(4:11) translokatsioon **KMT2A geeni 11q23**^{**}, mis sulandub **AFF1 (AF4)**^{**}ga 4q21, mille tulemuseks on kimeerne valk, mis reguleerib geeniekspressiooni, sealhulgas vereloome arengus osalevaid Hox-geene, ebatavaliselt. RS4:11 rakke on kasutatud ka sekundaarsete mutatsioonide, näiteks **FLT3**^{**} mutatsioonide uurimiseks, mis aitavad kaasa leukeemogeneesile ja raviresistentsusele. Rakuliin on usaldusväärne prekliiniline mudel sihtotstarbeliste ravimeetodite, sealhulgas KMT2A-AFF1 koostoime inhibiitorite ja sellega seotud signaaliradadele suunatud ainete testimiseks.

Organism	Inimene
Tissue	Luuüdi
Disease	Täiskasvanute B-akuutne lümfoblastileukeemia
Synonyms	RS4-11, RS4;11, RS 4;11, RS(4;11), RS411

Omadused

Age	32 aastat
Gender	Naised
Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Lümfoblastilaadsed
Growth properties	Peatamine

RS4:11 Rakud | 305360

Regulatiivsed andmed

Citation	RS4:11 (Cytioni katalooginumber 305360)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0093

Biomolekulaarsed andmed

MSI-status	Ebastabiilne, kõrge MSI teatatud
-------------------	----------------------------------

Töötlemine

Culture Medium	Alpha MEM, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: ribonukleosiidid, w: desoksüribonukleosiidid, w: 1,0 mM naatriumpüruvaat, w: 2,2g/L NaHCO ₃ , w/o: Askorbiinhape (GIBCO, kataloogi nr A1049001. Me ei tarni seda toodet; palun kaaluge teisi tarnijaid. Palun andke meile teada, kui vajate täiendavat abi)
Supplements	Täiendatakse keskkonda 20% soojusinaktiveeritud FBS-iga
Split ratio	Soovitav on suhe 1:2 kuni 1:4
Seeding density	Seemnekultuurid kontsentratsiooniga 3–5 × 10 ⁵ rakku/ml
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüsosäilitusvedelikuna kasutage täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

RS4:11 Rakud | 305360

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakuksuspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekekkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

RS4:11 Rakud | 305360

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.