

SUP-B15 rakud | 305385

Üldine teave

Description

SUP-B15 on inimese B-rakkude eellaste ägeda lümfoblastilise leukeemia (BCP-ALL) rakuliin, mis on saadud Philadelphia kromosoomi-positiivse (Ph+) ALL-iga lapse luuüdist. Seda iseloomustab BCR-ABL1-fusioonigeeni olemasolu, mis tuleneb t(9;22)(q34;q11) kromosoomide translokatsioonist, mis on Ph+ ALL-i tunnusmärk. See translokatsioon viib konstitutiivselt aktiivse BCR-ABL1 türosiinkinaasi tootmiseni, mis soodustab leukeemogeneesi, edendades kontrollimatut proliferatsiooni ja pärssides apoptoosi. Selle tulemusena on SUP-B15-i laialdaselt kasutatud leukeemia uurimisel, eelkõige Ph+ ALL-i aluseks olevate molekulaarsete mehhanismide uurimiseks ning türosiinkinaasi inhibiitorite (TKI-de), nagu imatinib ja dasatinib, testimiseks.

Uuringud on näidanud, et SUP-B15 rakkudes esineb MDM2-geeni üleväljendamine, mis reguleerib negatiivselt kasvajakavastast valku p53. See üleväljendamine toimub hoolimata loodusliku tüüpi p53 olemasolust, mis viitab sellele, et MDM2-vahendatud p53 inaktiveerimine soodustab leukeemiliste rakkude ellujäämist. p53 signaalimise deregulatsioon SUP-B15-s ja teistes BCP-ALL-rakuliinides toob esile potentsiaalsed terapeutilised nõrgad kohad, eriti MDM2-inhibiitorite puhul, mille eesmärk on taastada p53 funktsioon ja indutseerida apoptoosi leukeemilistes rakkudes.

SUP-B15 põhjalik genoomne ja transkriptomne profiilimine on andnud täiendavaid teadmisi selle molekulaarsest struktuurist. Kogu-eksoomi ja RNA sekveneerimise uuringud on tuvastanud mutatsioone ja geeniekspressiooni mustreid, mis on seotud leukeemia progresseerumise ja ravimresistentsusega. Farmakogenoomilistes analüüsides on SUP-B15 kaasatud ulatuslikesse ravimite tundlikkuse sõelumisprojektidesse, nagu näiteks need, mida viiakse läbi Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE) raames. Need uuringud on aidanud määratleda selle vastuvõtlikkust erinevatele sihtterapiatele, sealhulgas TKI-dele ja muudele väikemolekulilistele inhibiitoritele. Arvestades selle hästi iseloomustatud geneetilist tausta ja kliinilist tähtsust, jääb SUP-B15 oluliseks mudeliks prekliinilises leukeemia-uuringutes ja ravimiarenduses.

Organism Inimene**Tissue** Luuüdi**Disease** Äge lümfoblastiline leukeemia (ALL)**Applications** 3D rakukultuur, Immuunsüsteemi häirede uurimine, immunoloogia, immunoloogia**Synonyms** Sup-B15, SUPB-15, SUPB15, SupB15, SupB15W, SupB15WT

Omadused

Age 8 aastat**Gender** Mees**Ethnicity** Kaukaasia

SUP-B15 rakud | 305385**Morphology** Lümfoblastid**Cell type** B lümfoblast**Growth properties** Peatamine**Regulatiivsed andmed****Citation** SUP-B15 (Cytioni katalooginumber 305385)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0103**Biomolekulaarsed andmed****Protein expression** Immunoglobuliin (tsütoplasmaatiline)**Antigen expression** CD1a –; CD2 –; CD3 –; CD4 –; CD5 –; CD8 –; CD10+; CD13+; CD38+; CD71+; HLA DR+**Mutational profile** Geenifusioon: ABL1 + HGNC, HGNC:1014, BCR, nimetus(ed)=BCR-ABL1, BCR-ABL, märkus=BCR-i ekson 1 on ühinenud ABL1-i eksoniga 2 (e1a2 transkript)**Karyotype** 46, XY; esinevad järgmised markerid: t(9;22)(q34;q11), t(4;14)(p11;q24), der(4)t(1;4)(p11;q33), t(9;22) (q34;q11), der(10)t(3;10) (q25;q26), add(16); esineb Philadelphias kromosoom.**Töötlemine****Culture Medium** IMDM, w: 4,5 g/L glükoos, w: 4 mM L-glutamiin, w: 25 mM HEPES, w: 1,0 mM naatriumpüruvaat, w: 3,024 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820800a)**Supplements** Lisage kasvukeskkonnale 20% FBS-i ja 0,05 mM 2-merkaptotetanooli**Doubling time** 18 tundi

SUP-B15 rakud | 305385

Seeding density $2-4 \times 10^5$ rakku/ml

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150°C , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37°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 viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ 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 söötme keskkond 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°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78°C . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

SUP-B15 rakud | 305385

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 ja molekulaaranalüüs

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.