

RS4:11 Šūnas | 305360

Vispārīga informācija

Description

RS4:11 šūnu līnija ir iegūta no 32 gadus vecas pacientes ar akūtu limfoblastisku leukēmiju (ALL), kurai raksturīga hromosomu translokācija t(4:11)(q21;q23). Šīs translokācijas rezultātā veidojas **KMT2A-AFF1 (agrāk MLL-AF4)** saplūšanas gēns, kas ir šī leukēmijas apakštipa raksturīga pazīme. RS4:11 šūnām piemīt bifēnotipisks profils, tās vienlaikus ekspresē gan B-šūnu, gan monocītu marķierus, atspoguļojot ar šo ģenētisko pārkārtojumu saistītās jauktās līnijas īpašības. Šo šūnu līniju plaši izmanto kā modeli, lai izprastu KMT2A pārkārtojuma leukēmiju bioloģiju, kas saistīta ar agresīvu slimību un sliktu prognozi.

RS4:11 šūnām piemīt īpašības, kas raksturīgas pre-B limfoblastiem, tostarp tādu marķieru kā CD19, HLA-DR un termināldeoksinukleotidiltransferāzes (TdT) ekspresija, kā arī pārkārtoti imūnglobulīnu smago un vieglo ķēžu gēni. Interesanti, ka, apstrādājot ar diferenciāciju veicinošiem līdzekļiem, piemēram, fosfora esteriem, RS4:11 šūnas iegūst monocītiem līdzīgu fenotipu, tādējādi uzsverot to līnijveida plastiskumu. Šī īpašība padara šo šūnu līniju īpaši vērtīgu, lai pētītu diferenciācijas un līnijveidības diferenciācijas molekulāros faktorus leukēmijas gadījumā.

Ģenētiski t(4:11) translokācija izjauc **KMT2A gēnu 11q23**, sapludinot to ar **AFF1 (AF4)** 4q21, kā rezultātā rodas himerisks proteīns, kas aberatīvi regulē gēnu ekspresiju, tostarp Hox gēnus, kas iesaistīti hematopoētiskajā attīstībā. RS4:11 šūnas ir izmantotas arī, lai pētītu sekundārās mutācijas, piemēram, **FLT3**, kas veicina leukemoģenēzi un rezistenci pret ārstēšanu. Šūnu līnija kalpo kā spēcīgs pirmsklīniskais modelis mērķterapijas, tostarp KMT2A-AFF1 mijiedarbības inhibitoru un ar to saistīto signalizācijas ceļu inhibitoru, testēšanai.

Organism	Cilvēks
Tissue	Kaulu smadzenes
Disease	Pieaugušo B akūtā limfoblastiskā leukēmija
Synonyms	RS4-11, RS4;11, RS 4;11, RS(4;11), RS411

Raksturojums

Age	32 gadi
Gender	Sievietes
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Limfoblastiem līdzīgs
Growth properties	Apturēšana

RS4:11 Šūnas | 305360

Normatīvie dati

Citation	RS4:11 (Cytion kataloga numurs 305360)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0093

Biomolekulārie dati

MSI-status	Nestabilitāte, ziņots par augstu MSI
-------------------	--------------------------------------

Darbs ar

Culture Medium	Alpha MEM, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: Ribonukleozīdi, w: Deoksiribonukleozīdi, w: 1,0 mM nātrija piruvāts, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w/o: Askorbīnskābe (GIBCO, kataloga Nr. A1049001. Mēs nepiegādājam šo produktu; lūdzu, apsveriet citus piegādātājus. Lūdzu, informējiet mūs, ja jums nepieciešama papildu palīdzība.)
Supplements	Papildināt barotni ar 20 % termiski inaktivētu FBS
Split ratio	Ieteicams izmantot proporciju no 1:2 līdz 1:4
Seeding density	Sēklu kultūras 3–5 x 10 ⁵ šūnas/ml
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

RS4:11 Šūnas | 305360**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

RS4:11 Šūnas | 305360

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.