

Komórki SUP-B15 | 305385

Informacje ogólne

Description

SUP-B15 to linia komórkowa ostrej białaczki limfoblastycznej z komórek prekursorowych limfocytów B (BCP-ALL), pochodząca ze szpiku kostnego dziecka z ostrą białaczką limfoblastyczną (ALL) z chromosomem Filadelfia (Ph+). Charakteryzuje się obecnością genu fuzyjnego BCR-ABL1, wynikającego z translokacji chromosomowej t(9;22)(q34;q11), która jest cechą charakterystyczną ALL z chromosomem Filadelfia. Translokacja ta prowadzi do produkcji konstytutywnie aktywnej kinazy tyrozynowej BCR-ABL1, która napędza proces powstawania białaczki poprzez stymulowanie niekontrolowanej proliferacji i hamowanie apoptozy. W rezultacie linia komórkowa SUP-B15 znalazła szerokie zastosowanie w badaniach nad białaczką, zwłaszcza w badaniu mechanizmów molekularnych leżących u podstaw ALL z chromosomem Filadelfia oraz w testowaniu inhibitorów kinazy tyrozynowej (TKI), takich jak imatynib i dasatynib.

Badania wykazały, że komórki SUP-B15 wykazują nadekspresję genu MDM2, który negatywnie reguluje białko supresorowe nowotworów p53. Nadekspresja ta występuje pomimo obecności p53 typu dzikiego, co sugeruje, że inaktywacja p53 za pośrednictwem MDM2 przyczynia się do przeżycia komórek białaczkowych. Zaburzenie sygnalizacji p53 w linii komórkowej SUP-B15 i innych liniach komórkowych BCP-ALL wskazuje na potencjalne słabe punkty terapeutyczne, szczególnie w przypadku inhibitorów MDM2, których celem jest przywrócenie funkcji p53 i wywołanie apoptozy w komórkach białaczkowych.

Kompleksowe profilowanie genomiczne i transkryptomyczne linii SUP-B15 dostarczyło dodatkowych informacji na temat jej krajobrazu molekularnego. Badania sekwencjonowania całego eksomu i RNA pozwoliły zidentyfikować mutacje oraz wzorce ekspresji genów związane z progresją białaczki i opornością na leki. W analizach farmakogenomicznych linia SUP-B15 została uwzględniona w szeroko zakrojonych badaniach przesiewowych wrażliwości na leki, takich jak te prowadzone w ramach projektu Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE). Badania te pomogły określić jej reakcję na różne terapie celowane, w tym inhibitory kinaz tyrozynowych (TKI) i inne inhibitory małocząsteczkowe. Ze względu na dobrze scharakteryzowane podłoże genetyczne i znaczenie kliniczne linia SUP-B15 pozostaje kluczowym modelem w przedklinicznych badaniach nad białaczką oraz w rozwoju leków.

Organism

Człowiek

Tissue

Szpik kostny

Disease

Ostra białaczka limfoblastyczna (ALL)

Applications

hodowla komórkowa 3D, Badania nad zaburzeniami układu odpornościowego, Immunologia

Synonyms

Sup-B15, SUPB-15, SUPB15, SupB15, SupB15W, SupB15WT

Charakterystyka

Age

8 lat

Gender

Męczyzna

Komórki SUP-B15 | 305385**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Limfoblast**Cell type** Limfoblast B**Growth properties** Zawieszenie**Dane regulacyjne****Citation** SUP-B15 (numer katalogowy Cytion 305385)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0103**Dane biomolekularne****Protein expression** Immunoglobulina (cytoplazmatyczna)**Antigen expression** CD1a -; CD2 -; CD3 -; CD4 -; CD5 -; CD8 -; CD10+; CD13+; CD38+; CD71+; HLA DR+**Mutational profile** Fuzja genów: ABL1 + HGNC, HGNC:1014, BCR, Nazwa(-y)=BCR-ABL1, BCR-ABL, Uwaga=Ekson 1 genu BCR połączony z eksonem 2 genu ABL1 (transkrypt e1a2)**Karyotype** 46, XY; występują następujące markery: 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); występuje chromosom filadelfijski.**Obsługa****Culture Medium** IMDM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 25 mM HEPES, w: 1,0 mM pirogronianu sodu, w: 3,024 g/l NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820800a)**Supplements** Do pożywki dodać 20% FBS i 0,05 mM 2-merkaptetanolu**Doubling time** 18 godzin

Komórki SUP-B15 | 305385

Seeding density od 2 do 4×10^5 komórek/ml

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Komórki SUP-B15 | 305385

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.