

Ústav hematologie a krevní transfuze: Oddělení proteomiky

Dlouhodobá kultivace primárních buněk a charakterizace buněčných linií od nemocných s mnohočetným myelomem

Imunologická laboratoř v oddělení proteomiky se zabývá dlouhodobou kultivací leukemických a nádorových buněk nemocných s leukemií nebo mnohočetným myelomem. Leukemické nebo myelomové buňky jsou izolovány z periferní krve nemocných s leukemií nebo kostní dřene nemocných s myelomem. Takto separované mononukleární buňky jsou kultivovány ve skleněných nebo plastických baňkách v médiích bez přítomnosti nebo v přítomnosti růstových faktorů – cytokinů – interleukinu 6 (IL-6) v případě myelomových buněk nebo rekombinantního faktoru stimulujícího tvorbu kolonií granulocytů (G-CSF) nebo granulocytů i monocytů (GM-CSF) po celou dobu kultivace.

Přitom je monitorován fenotyp, buněčný růst, dělení, diferenciaci, maturace a buněčná smrt (apoptóza nebo nekróza, případně jiný typ buněčné smrti) u takto kultivovaných buněk. Kultivace se provádí zpravidla po několik týdnů až měsíců, vždy do doby, kdy kultura buď zanikne, zdiferencuje a nebo z ní vznikne permanentní buněčná linie. Vznik permanentní linie derivované z leukemických nebo myelomových buněk nemocných je vždy náhodnou a vzácnou událostí. Navíc vzniklé linie nemusí vždy pocházet z původních leukemických a myelomových buněk nemocného. Kriteřiem je obsah genomu viru Epstein-Barrové (EBV). Ustavené linie odvozené z původních leukemických nebo myelomových buněk exprimují zpravidla stejné znaky jako původní maligní buňky pacienta. Linie, které vznikly z myelomu, často sekretují nebo exprimují v cytoplasmě imunoglobulin stejné třídy a i stejného idiotypu jako původní myelomové buňky nemocného. Každá permanentní linie odvozená z nádorových buněk nemocného se stává mocným nástrojem k výzkumu idiotypů původních nádorů, nádorových kmenových buněk a jejich genotypu a fenotypu na molekulární úrovni genomu, transkriptomu i proteomu. Na permanentních leukemických i nádorových liniích se testují nové cílené protinádorové látky v preklinických studiích. Buněčné linie také slouží jako reference pro standardizaci jednotlivých typů nádorů a leukemií. Leukemické buněčné linie také sloužily jako zdroj antigenů a jako imunogen při přípravě monoklonálních protilátek proti CD antigenům. V naší laboratoři se již dříve podařilo ustavit několik leukemických buněčných linií (UHKT-40, UHKT-41, UHKT-42) (3) a v nedávné době i myelomové buněčné linie (UHKT-893, UHKT-944, UHKT-944a). Tyto linie byly průběžně charakterizovány fenotypově, genomicky, cytogeneticky i proteomicky a vykazují stejné znaky jako původní leukemické a myelomové buňky. Ustavení a charakterizace těchto linií byly publikovány (1,2). Linie UHKT-944a, která je růstově nezávislá na přítomnosti IL-6, byla postupně během několika týdnů derivována z linie UHKT-944, snižováním koncentrace IL-6 v kultivačním médiu až na nulovou hladinu.

Obě linie UHKT-893 i UHKT-944 včetně UHKT-944a byly zaslány do Německé sbírky linií a mikroorganismů (DSMZ, Braunschweig) a jsou volně k dispozici pro výzkumné účely.



Literatura:

1. Uherková, L., Vančurová, I., Vyhlídalová, I., Pleschnerová M., Špička, I., Mihalová, R., Březinová, J., Hodný, Z., Čermáková, K., Polanská, V., Marinov, I., Jedelský, P. L., Kuželová, K., Stöckbauer, P.: Novel human multiple myeloma cell line UHKT-893. *Leukemia Res.*, 37 (2013) 320-326.
2. Vyhlídalová, I., Uherková, L., Pleschnerová, M., Špička, I., Březinová, J., Michalová, K., Čermáková, K., Polanská, V., Jedelský, P., L., Hamšíková, E., Kuželová, K., a Stöckbauer, P.: Characterization of a new human plasma cell leukemia cell line UHKT-944. *Eur. J. Haematology*, 95 (352-360).
3. Stöckbauer, P., Ariyasu, T., Starý, J., Holáň, V., Tao Dao, Minowada, J.: Establishment and characterization of a novel immature T-ALL cell line ÚHKT-42, with TCR beta/delta expression. *Human Cell* 7 (1994), 1, 40-45.