Product sheet

Клетки KMS-12-PE | 300286

Обща информация

Description	Клетъчната линия KMS-12-PE, създадена от плеврален излив на същия пациент, се различава значително от KMS-12-BM в няколко аспекта. Клетките KMS-12-PE представляват по-терминално диференциран плазмоцитен стадий, както показва липсата на CD20, но продължаващата експресия на CD38 и PCA-1. Поразителна характеристика на KMS-12-PE е способността му да произвежда и отделя слюнчен тип амилаза, както в плевралния излив на пациента, така и в култура, което го прави уникален сред човешките миеломни клетъчни линии. Този феномен е свързан с хромозомна делеция в близост до областта, в която се намира генът за амилаза, по-конкретно del(1)(p22→pter), наблюдавана в значителна част от клетките на KMS-12-PE. Въпреки тези различни разлики, както KMS-12-PE, така и KMS-12-BM имат един и същ клонов маркер - транслокацията t(11;14)(q13;q32), която е често срещана при случаите на миелом. Клетките KMS-12-PE обаче показват по-малко хромозомни аномалии от KMS-12-BM и обикновено са хиподиплоидни. Подобно на KMS-12-BM, KMS-12-PE не произвежда имуноглобулини нито в повърхностна, нито в секреторна форма, въпреки че клетките имат добре развит ендоплазмен ретикулум. Липсата на туморогенност при двете клетъчни линии, въпреки агресивния им in vitro растеж, и стабилното им дългосрочно размножаване в среда без серум ги правят ценни инструменти за изучаване на биологията на миелома, особено в контекста на непродуциращия Ig миелом.
Organism	Човек
Tissue	Плеврален излив
Disease	Множествен миелом
Synonyms	KMS 12 PE, KMS-12_PE, KMS-12PE, KMS12-PE, KMS12PE, Kawasaki Medical School-12-Pleural Effusion

Характеристики

Age	64 години
Gender	Жена
Ethnicity	Японски
Morphology	Кръгли клетки
Cell type	Клетка B
Growth properties	Суспензия, единични клетки и малки клъстери

Product sheet

Клетки KMS-12-PE | 300286

Регулаторни данни

Citation	KMS-12-PE (каталожен номер 300286 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1333

Биомолекулярни данни

Surface antigens	CD3 -, CD4 -, CD13 -, CD14 -, CD15 -, CD19 -, CD20 -, CD34 -, CD38 +, CD138 +, HLA-DR +, PCA-1 +
Tumorigenic	Не е туморогенен при голи мишки
Products	Няма производство на имуноглобулин
Mutational profile	Транслокация: t(11;14)(q13;q32)

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Subculturing	Поддържайте културите, като периодично добавяте или подменяте средата. Започнете културите с плътност 5 x 10^5 клетки/ml и поддържайте концентрацията на клетките в диапазона от 3 x 10^5 до 1 x 10^6 клетки/ml за оптимален растеж.
Seeding density	5 x 10^5 клетки/ml
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки KMS-12-PE | 300286

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки KMS-12-PE | 300286

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.