Product sheet

Buňky KMS-12-PE | 300286

Obecné informace

Description	Buněčná linie KMS-12-PE, vytvořená z pleurálního výpotku téhož pacienta, se od KMS-12-BM v několika ohledech významně liší. Buňky KMS-12-PE představují terminálněji diferencované stadium plazmatických buněk, jak naznačuje nepřítomnost CD20, ale přetrvávající exprese CD38 a PCA-1. Pozoruhodným rysem KMS-12-PE je její schopnost ektopicky produkovat a vylučovat slinný typ amylázy, a to jak v pleurálním výpotku pacienta, tak v kultuře, což ji činí jedinečnou mezi lidskými myelomovými buněčnými liniemi. Tento jev souvisí s chromozomální delecí v blízkosti oblasti, kde se nachází gen pro amylázu, konkrétně del(1)(p22→pter), která byla pozorována u významného podílu buněk KMS-12-PE. Navzdory těmto odlišnostem mají KMS-12-PE i KMS-12-BM stejný klonální marker, translokaci t(11;14)(q13;q32), která je v případech myelomu běžná. Buňky KMS-12-PE však vykazují méně chromozomálních abnormalit než buňky KMS-12-BM a bývají hypodiploidní. Stejně jako KMS-12-BM, ani KMS-12-PE neprodukuje imunoglobuliny, a to ani v povrchové, ani v sekreční formě, přestože buňky mají dobře vyvinuté endoplazmatické retikulum. Absence tumorigenity u obou buněčných linií, navzdory jejich agresivnímu růstu in vitro, a jejich stabilní dlouhodobá proliferace v bezsérovém médiu z nich činí cenné nástroje pro studium biologie myelomu, zejména v kontextu myelomu neprodukujícího Ig.
Organism	Člověk
Tissue	Pleurální výpotek
Disease	Mnohočetný myelom
Synonyms	KMS 12 PE, KMS-12_PE, KMS-12PE, KMS12-PE, KMS12PE, Kawasaki Medical School-12-Pleural Effusion

Charakteristika

Age	64 let
Gender	Ženy
Ethnicity	Japonský
Morphology	Kulaté buňky
Cell type	B buňka
Growth properties	Suspenze, jednotlivé buňky a malé shluky

Regulační údaje

Buňky KMS-12-PE | 300286

Citation	KMS-12-PE (katalogové číslo Cytion 300286)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1333

Biomolekulární data

Surface antigens	CD3 -, CD4 -, CD13 -, CD14 -, CD15 -, CD19 -, CD20 -, CD34 -, CD38 +, CD138 +, HLA-DR +, PCA-1 +
Tumorigenic	Není tumorigenní u nahých myší
Products	Žádná produkce imunoglobulinů
Mutational profile	Translokace: t(11;14)(q13;q32)

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Subculturing	Kultury udržujte pravidelným přidáváním nebo výměnou média. Zahajte kultury s hustotou 5 x 10^5 buněk/ml a pro optimální růst udržujte koncentraci buněk v rozmezí 3 x 10^5 až 1 x 10^6 buněk/ml.
Seeding density	5 x 10^5 buněk/ml
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky KMS-12-PE | 300286

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky KMS-12-PE | 300286

Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.
Profil STR	**PEZ6**: MNNG-HOS (CL #5)