

Buňky KU812 | 305306

Obecné informace

Description

Buněčná linie KU812 je lidská leukemická buněčná linie původně získaná od pacienta s chronickou myelogenní leukémií (CML) ve fázi blastické krize. Vyniká schopností diferencovat se za specifických podmínek do bazofilní a erytroidní linie, což z ní činí cenný nástroj pro studium diferenciací krvetvorby a souvisejících malignit. Buněčná linie vykazuje znaky bazofilních prekurzorů, včetně přítomnosti metachromatických granulí, které jsou pozitivní na barvení toluidinovou modří a astra modří, a syntetizuje histamin, což svědčí o bazofilní aktivitě.

Buňky KU812 jsou zvláště důležité při zkoumání pseudoalergie související s aktivací komplementu (CARPA) a reakcí přecitlivělosti zprostředkovaných bazofily. Tato užitečnost vyplývá z jejich silné reakce na proteiny komplementu, jako jsou C3a a C5a, které spouštějí uvolňování histaminu a dalších zánětlivých mediátorů a napodobují pseudoalergické reakce. Buňky KU812 exprimují povrchové buněčné markery, jako jsou CD63 a CD203c, které jsou spojeny s bazofilní aktivací a degranulací. Tyto markery byly použity v protokolech založených na průtokové cytometrii k hodnocení imunologické kompatibility nanomedicín a jiných biologických látek.

Buňky KU812 navíc vykazují potenciál erytroidní diferenciací, pokud jsou kultivovány v podmínkách s přídavkem erythropoetinu. To zahrnuje spontánní zrání v erytroidní buňky schopné syntetizovat různé hemoglobiny, například dospělé a fetální formy. Tyto vlastnosti potvrzují jejich užitečnost při studiu erythropoézy spolu s bazofilní diferenciací, což z KU812 činí univerzální model pro hematologický výzkum.

Organism	Člověk
Tissue	Periferní krev
Disease	Chronická myelogenní leukémie, BCR-ABL1 pozitivní
Synonyms	Ku812, KU-812, KU.812, KU 812

Charakteristika

Age	38 let
Gender	Muži
Ethnicity	Japonský
Morphology	Lymfoblastům podobné
Cell type	Bazofilní progenitorové buňky
Growth properties	Zavěšení

Buňky KU812 | 305306

Regulační údaje

Citation	KU812 (katalogové číslo Cytion 305306)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0379

Biomolekulární data

Antigen expression	CD3, ANPEP (CD13)
Mutational profile	Mutate: Lys132Arg (c.395A>G), homozygotní; genová fúze: BCR-ABL, BCR exon 14 fúzovaný s ABL1 exonem 2 (b3a2 transkript)
Karyotype	Buňky obsahují alespoň jeden Ph1 (filadelfský) chromozom.

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium 10% FBS, přidejte 2,5 g/l glukózy a 10 mM HEPES
Subculturing	Shromážděte suspenzi buněk do 15 ml zkumavky a jemně promyjte adherentní buňky PBS bez vápníku a hořčíku (použijte 3-5 ml pro baňky T25 a 5-10 ml pro baňky T75). Aplikujte Accutase (1-2 ml pro baňky T25, 2,5 ml pro baňky T75), abyste zajistili úplné pokrytí buněčné vrstvy. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 10 minut. Po inkubaci spojte a odstředte suspenzi i adherované buňky. Po odstředění opatrně resuspendujte buněčnou peletu a přeneste buněčnou suspenzi do nových baněk obsahujících čerstvé médium.
Seeding density	3 x 10 ⁵ buněk/ml
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
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 KU812 | 305306**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 odstřeďte 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 % CO_2 , 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 KU812 | 305306

**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 / Genetický profil / HLA

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.