

KU812-Zellen | 305306

Allgemeine Informationen

Description

Die Zelllinie KU812 ist eine menschliche leukämische Zelllinie, die ursprünglich von einem Patienten mit chronischer myeloischer Leukämie (CML) in der blastischen Krisenphase stammt. Sie zeichnet sich durch ihre Fähigkeit aus, sich unter bestimmten Bedingungen in basophile und erythroide Linien zu differenzieren, was sie zu einem wertvollen Instrument für die Untersuchung der hämatopoetischen Differenzierung und damit verbundener maligner Erkrankungen macht. Die Zelllinie weist Merkmale basophiler Vorläufer auf, darunter das Vorhandensein metachromatischer Granula, die positiv für Toluidinblau- und Astrablau-Färbung sind, und sie synthetisiert Histamin, was auf eine basophile Aktivität hinweist.

KU812-Zellen sind besonders wichtig für die Untersuchung der Komplementaktivierungs-bedingten Pseudoallergie (CARPA) und der von Basophilen vermittelten Überempfindlichkeitsreaktionen. Dieser Nutzen ergibt sich aus ihrer robusten Reaktion auf Komplementproteine wie C3a und C5a, die die Freisetzung von Histamin und anderen Entzündungsmediatoren auslösen und so pseudoallergische Reaktionen imitieren. KU812-Zellen exprimieren Zelloberflächenmarker wie CD63 und CD203c, die mit basophiler Aktivierung und Degranulation in Verbindung gebracht werden. Diese Marker wurden in durchflusszytometrischen Protokollen zur Bewertung der immunologischen Verträglichkeit von Nanomedikamenten und anderen Biologika eingesetzt.

Darüber hinaus zeigen KU812-Zellen ein erythroides Differenzierungspotenzial, wenn sie unter Erythropoietin-gesättigten Bedingungen kultiviert werden. Dazu gehört die spontane Reifung zu erythroiden Zellen, die in der Lage sind, verschiedene Hämoglobine zu synthetisieren, z. B. adulte und fetale Formen. Diese Eigenschaften unterstreichen ihren Nutzen bei der Untersuchung der Erythropoese neben der basophilen Differenzierung und machen KU812 zu einem vielseitigen Modell für die hämatologische Forschung.

Organism

Menschen

Tissue

Peripheres Blut

Disease

Chronische myeloische Leukämie, BCR-ABL1 positiv

Synonyms

Ku812, KU-812, KU.812, KU 812

Merkmale

Age

38 Jahre

Gender

Männlich

Ethnicity

Japanisch

Morphology

Lymphoblasten-ähnlich

Cell type

Basophile Vorläuferzelle

KU812-Zellen | 305306

Growth properties Aufhängung

Regulatorische Daten

Citation KU812 (Cytion-Katalognummer 305306)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0379

Biomolekulare Daten

Antigen expression CD3, ANPEP (CD13)

Mutational profile Mutation: TP53, p.Lys132Arg (c.395A>G), homozygot; Genfusion: BCR-ABL, BCR-Exon 14 fusioniert mit ABL1-Exon 2 (b3a2-Transkript)

Karyotype Die Zellen enthalten mindestens ein Ph1-Chromosom (Philadelphia-Chromosom).

Handhabung

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820700a)

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10 % FBS, fügen Sie 2,5 g/L Glukose und 10 mM HEPES hinzu

Subculturing Die Suspensionszellen in einem 15-ml-Röhrchen sammeln und die anhaftenden Zellen vorsichtig mit PBS ohne Kalzium und Magnesium waschen (3-5 ml für T25-Kolben und 5-10 ml für T75-Kolben verwenden). Accutase auftragen (1-2 ml für T25-Kolben, 2,5 ml für T75-Kolben), um sicherzustellen, dass die Zellschicht vollständig bedeckt ist. Die Zellen 10 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren lassen. Nach der Inkubation sowohl die Suspension als auch die adhärenen Zellen mischen und zentrifugieren. Nach der Zentrifugation das Zellpellet vorsichtig resuspendieren und die Zellsuspension in neue Flaschen mit frischem Medium überführen.

Seeding density 3×10^5 Zellen/ml

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

KU812-Zellen | 305306

Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärennten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

KU812-Zellen | 305306

**Shipping
Conditions**

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

**Storage
Conditions**

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.