Product sheet

Κύτταρα KMS-12-PE | 300286

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά KMS-12-PE, που δημιουργήθηκε από την υπεζωκοτική συλλογή του ίδιου ασθενούς, διαφέρει σημαντικά από την KMS-12-BM σε διάφορες πτυχές. Τα κύτταρα KMS-12-PE αντιπροσωπεύουν ένα πιο τελικώς διαφοροποιημένο στάδιο πλασματοκυττάρων, όπως υποδεικνύεται από την απουσία του CD20 αλλά τη συνεχιζόμενη έκφραση του CD38 και του PCA-1. Ένα εντυπωσιακό χαρακτηριστικό του KMS-12-PE είναι η ικανότητά του να παράγει και να εκκρίνει έκτοπα έναν σιελογενή τύπο αμυλάσης, τόσο στην πλευριτική συλλογή του ασθενούς όσο και σε καλλιέργεια, γεγονός που το καθιστά μοναδικό μεταξύ των ανθρώπινων κυτταρικών σειρών μυελώματος. Το φαινόμενο αυτό σχετίζεται με μια χρωμοσωμική διαγραφή κοντά στην περιοχή όπου βρίσκεται το γονίδιο της αμυλάσης, συγκεκριμένα del(1)(p22→pter), που παρατηρείται σε σημαντικό ποσοστό των κυττάρων KMS-12-PE. Παρά τις διακριτές αυτές διαφορές, τόσο το KMS-12-PE όσο και το KMS-12-BM μοιράζονται τον ίδιο κλωνικό δείκτη, τη μετάθεση t(11;14)(q13;q32), η οποία είναι κοινή σε περιπτώσεις μυελώματος. Ωστόσο, τα κύτταρα KMS-12-PE εμφανίζουν λιγότερες χρωμοσωμικές ανωμαλίες από τα κύτταρα KMS-12-BM και τείνουν να είναι υποδιπλοειδή. Όπως και το KMS-12-BM, το KMS-12-PE δεν παράγει ανοσοσφαιρίνες, ούτε σε επιφανειακή ούτε σε εκκριτική μορφή, παρόλο που τα κύτταρα έχουν καλά ανεπτυγμένο ενδοπλασματικό δίκτυο. Η έλλειψη καρκινικότητας και στις δύο κυτταρικές σειρές, παρά την επιθετική in vitro ανάπτυξή τους, και ο σταθερός μακροχρόνιος πολλαπλασιασμός τους σε μέσο χωρίς ορό τις καθιστούν πολύτιμα εργαλεία για τη μελέτη της βιολογίας του μυελώματος, ιδίως στο πλαίσιο του μη Ig-παραγωγού μυελώματος.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Υπεζωκοτική συλλογή
Disease	Πολλαπλό μυέλωμα
Synonyms	KMS 12 PE, KMS-12_PE, KMS-12PE, KMS12-PE, KMS12PE, Kawasaki Medical School-12-Pleural Effusion

Χαρακτηριστικά

Age	64 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Ιαπωνικά
Morphology	Στρογγυλά κύτταρα
Cell type	Κύτταρο B
Growth properties	Εναιώρημα, μεμονωμένα κύτταρα και μικρές συστάδες

Product sheet

Κύτταρα KMS-12-PE | 300286

Ρυθμιστικά δεδομένα

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

Βιομοριακά δεδομένα

Surface antigens	CD3 -, CD4 -, CD13 -, CD14 -, CD15 -, CD19 -, CD20 -, CD34 -, CD38 +, CD138 +, HLA-DR +, PCA-1 +
Tumorigenic	Δεν είναι καρκινικό σε γυμνά ποντίκια
Products	Δεν υπάρχει παραγωγή ανοσοσφαιρίνης
Mutational profile	Μετάθεση: t(11;14)(q13;q32)

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Subculturing	Διατηρήστε τις καλλιέργειες προσθέτοντας ή αντικαθιστώντας περιοδικά το μέσο. Ξεκινήστε τις καλλιέργειες με πυκνότητα 5 x 10^5 κύτταρα/ml και διατηρήστε τη συγκέντρωση των κυττάρων εντός του εύρους 3 x 10^5 έως 1 x 10^6 κύτταρα/ml για βέλτιστη ανάπτυξη.
Seeding density	5 x 10^5 κύτταρα/ml
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα KMS-12-PE | 300286

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα KMS-12-PE | 300286

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.