

Κύτταρα KU812 | 305306

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά KU812 είναι μια ανθρώπινη λευχαιμική κυτταρική σειρά που προέρχεται αρχικά από ασθενή με χρόνια μυελογενή λευχαιμία (ΧΜΛ) στη φάση της βλαστικής κρίσης. Είναι αξιοσημείωτη για την ικανότητά της να διαφοροποιείται σε βασεόφιλες και ερυθροειδείς σειρές υπό συγκεκριμένες συνθήκες, γεγονός που την καθιστά πολύτιμο εργαλείο για τη μελέτη της αιμοποιητικής διαφοροποίησης και των σχετικών κακοηθειών. Η κυτταρική σειρά εμφανίζει χαρακτηριστικά βασεόφιλων πρόδρομων κυττάρων, συμπεριλαμβανομένης της παρουσίας μεταχρωματικών κοκκίων που είναι θετικά για χρώση με μπλε τολουϊδίνης και μπλε άστρου, και συνθέτει ισταμίνη, ενδεικτική της βασεόφιλης δραστηριότητας.

Τα κύτταρα KU812 είναι ιδιαίτερα σημαντικά για τη διερεύνηση της ψευδοαλλεργίας που σχετίζεται με την ενεργοποίηση του συμπληρώματος (CARPA) και των αντιδράσεων υπερευαισθησίας που μεσολαβούνται από τα βασεόφιλα. Η χρησιμότητα αυτή απορρέει από την ισχυρή απόκρισή τους στις πρωτεΐνες του συμπληρώματος, όπως οι C3a και C5a, οι οποίες προκαλούν την απελευθέρωση ισταμίνης και άλλων φλεγμονωδών μεσολαβητών, μιμούμενες ψευδοαλλεργικές αντιδράσεις. Τα κύτταρα KU812 εκφράζουν δείκτες κυτταρικής επιφάνειας όπως τα CD63 και CD203c, οι οποίοι σχετίζονται με τη βασεόφιλη ενεργοποίηση και αποκοκκίωση. Αυτοί οι δείκτες έχουν χρησιμοποιηθεί σε πρωτόκολλα βασισμένα στην κυτταρομετρία ροής για την αξιολόγηση της ανοσολογικής συμβατότητας ναοφαρμάκων και άλλων βιολογικών προϊόντων.

Επιπλέον, τα κύτταρα KU812 επιδεικνύουν δυνατότητα ερυθροειδούς διαφοροποίησης όταν καλλιεργούνται σε συνθήκες συμπληρωμένες με ερυθροποιητίνη. Αυτό περιλαμβάνει την αυθόρμητη ωρίμανση σε ερυθροειδή κύτταρα ικανά να συνθέτουν διάφορες αιμοσφαιρίνες, όπως μορφές ενηλίκων και εμβρύων. Τα χαρακτηριστικά αυτά υπογραμμίζουν τη χρησιμότητά τους στη μελέτη της ερυθροποίησης παράλληλα με τη βασεοφιλική διαφοροποίηση, καθιστώντας τα KU812 ένα ευέλικτο μοντέλο για την αιματολογική έρευνα.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Περιφερικό αίμα

Disease

Χρόνια μυελογενής λευχαιμία, θετική BCR-ABL1

Synonyms

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

Χαρακτηριστικά

Age

38 χρόνια

Gender

Άντρας

Ethnicity

Ιαπωνικά

Morphology

Λεμφοβλάστες που μοιάζουν με λεμφοβλάστες

Cell type

Προγονικό κύτταρο βασεοφίλων

Κύτταρα KU812 | 305306

Growth properties Αναστολή

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation KU812 (αριθμός καταλόγου Cytion 305306)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0379

Βιομοριακά δεδομένα

Antigen expression CD3, ANPEP (CD13)

Mutational profile Μετάλλαξη: Γονιδιακή σύντηξη: TP53, p.Lys132Arg (c.395A>G), ομόζυγος: BCR-ABL, το εξώνιο 14 του BCR συγχωνεύεται με το εξώνιο 2 του ABL1 (μεταγραφή b3a2)

Karyotype Τα κύτταρα περιέχουν τουλάχιστον ένα χρωμόσωμα Ph1 (Philadelphia).

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, προσθέστε 2,5 g/L γλυκόζης και 10 mM HEPES

Subculturing Συγκεντρώστε τα εναιωρήματα σε ένα σωληνάριο των 15 ml και πλύνετε απαλά τα προσκολλημένα κύτταρα με PBS χωρίς ασβέστιο και μαγνήσιο (χρησιμοποιήστε 3-5 ml για φιάλες T25 και 5-10 ml για φιάλες T75). Εφαρμόστε Accutase (1-2 ml για φιάλες T25, 2,5 ml για φιάλες T75) εξασφαλίζοντας πλήρη κάλυψη της κυτταρικής στιβάδας. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά. Μετά την επώαση, συνδυάστε και φυγοκεντρίστε τόσο το εναιώρημα όσο και τα προσκολλημένα κύτταρα. Μετά τη φυγοκέντρηση, ανασυγκεντρώστε προσεκτικά το κυτταρικό σφαιρίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα κυττάρων σε νέες φιάλες που περιέχουν φρέσκο μέσο.

Seeding density 3×10^5 κύτταρα/mL

Fluid renewal 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Κύτταρα KU812 | 305306**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.

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 $300 \times g$ 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% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Κύτταρα KU812 | 305306

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.

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.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

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.