Product sheet

KMS-12-PE rakud | 300286

Üldine teave

Description	KMS-12-PE rakuliin, mis on loodud sama patsiendi pleuraefusioonist, erineb oluliselt KMS-12-BM-st mitme aspekti poolest. KMS-12-PE rakud esindavad lõplikult diferentseeritud plasmarakkude staadiumi, millele viitab CD20 puudumine, kuid CD38 ja PCA-1 jätkuv ekspressioon. KMS-12-PE silmatorkavaks tunnuseks on tema võime toota ja eritada ektoopiliselt süljetüüpi amülaasi nii patsiendi pleuraefusioonis kui ka kultuuris, mis teeb ta inimese müeloomi rakuliinide seas ainulaadseks. See nähtus on seotud kromosomaalse deletsiooniga piirkonnas, kus asub amülaasigeen, täpsemalt del(1)(p22→pter), mida täheldati märkimisväärsel osal KMS-12-PE rakkudest. Vaatamata nendele erinevatele erinevustele on nii KMS-12-PE kui ka KMS-12-BM-l sama klooniline marker, translokatsioon t(11;14)(q13;q32), mis on müeloomi puhul tavaline. KMS-12-PE rakkudel on siiski vähem kromosoomianomaaliaid kui KMS-12-BM-l ja nad on pigem hüpodiploidsed. Nagu KMS-12-BM, ei tooda ka KMS-12-PE immunoglobuliine, ei pinnalisel ega sekretoorsel kujul, kuigi rakkudel on hästi arenenud endoplasmaatiline retikulum. Mõlema rakuliini vähene kasvavus, vaatamata nende agressiivsele in vitro kasvule, ja nende stabiilne pikaajaline proliferatsioon seerumivabas keskkonnas teevad neist väärtuslikud vahendid müeloomi bioloogia uurimiseks, eriti mitte-Ig-produktiivse müeloomi kontekstis.
Organism	Inimene
Tissue	Pleuraefusioon
Disease	Müeloomi paljunemine
Synonyms	KMS 12 PE, KMS-12_PE, KMS-12PE, KMS12-PE, KMS12PE, Kawasaki Medical School-12-Pleural Effusion

Omadused

Age	64 aastat
Gender	Naised
Ethnicity	Jaapani
Morphology	Ümmargused rakud
Cell type	B-raku
Growth properties	Suspension, üksikud rakud ja väikesed klastrid

Regulatiivsed andmed

KMS-12-PE rakud | 300286

Citation	KMS-12-PE (Cytioni kataloginumber 300286)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1333

Biomolekulaarsed andmed

Surface antigens	CD3 -, CD4 -, CD13 -, CD14 -, CD15 -, CD19 -, CD20 -, CD34 -, CD38 +, CD138 +, HLA-DR +, PCA-1 +
Tumorigenic	Ei ole tuumorigeenne alasti hiirtel
Products	Immuunglobuliini tootmine puudub
Mutational profile	Translokatsioon: t(11;14)(q13;q32)

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Subculturing	Säilitage kultuure, lisades või asendades perioodiliselt kasvukeskkonda. Alustage kultuuride kasvatamist tihedusega 5 x 10^5 rakku/ml ja hoidke rakkude kontsentratsioon vahemikus 3 x 10^5 kuni 1 x 10^6 rakku/ml optimaalse kasvu tagamiseks.
Seeding density	5 x 10^5 rakku/ml
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub
Freezing Procedure	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.