

KMS-12-BM rakud | 300287**Üldine teave****Description**

KMS-12-BM rakuliin on inimese müeloomi rakuliin, mis on loodud mitteproduktiivse hulgimüeloomiga patsiendi luuüdist. See rakuliin esindab B-rakkude diferentseerumise ebaküpset plasmatoidset staadiumi, mida iseloomustab pinnamarkerite CD20, CD38 ja PCA-1 ekspressioon, kuid immuunglobuliini tootmise puudumine. Rakkude morfoloogiat iseloomustab nende moonutatud morfoloogia, kusjuures paljudel neist on mitmetuumalised ja hiiglaslikud tunnused. Ultrastruktuursetl on KMS-12-BM rakkudel hästi arenenud karge endoplasmaatiline retikulum ja ovoidsed ekstsentrilised tuumad perifeerse kromatiini jaotusega, mis on iseloomulikud plasmatsütoidsetele rakkudele.

KMS-12-BM rakkudel on kromosoomianomaalia, eelkõige vastastikune translokatsioon t(11;14)(q13;q32), mis on sageli seotud hulgimüeloomiga. Nendel rakkudel on ka lai kromosoomide arvude vahemik, alates hüpodiploidsetest kuni polüploidseteni, mis viitab märkimisväärsele genoomilisele ebastabiilsusele. Erinevalt oma vaste KMS-12-PE'st ei tooda KMS-12-BM liin amülaasi ja sellel puudub immunoglobuliini sekretsioon või pinnaekspressioon, mistõttu sobib see immunoglobuliini mitteproduktseeriva müeloomiga seotud uuringuteks. Lisaks sellele on selle kloonimise tõhusus pehme agar-kultuuri tingimustes madal, moodustades vähem kui 0,1% kolooniaid, ning sellel ei ole tuumorigeenseid omadusi, kui seda süstitakse alasti hiirtele.

Organism Inimene**Tissue** Luuüdi**Disease** Müeloomi paljunemine**Synonyms** KMS 12 BM, KMS-12BM, KMS12-BM, KMS12BM, KMS-12, KMS12, KMS12, Kawasaki Medical School-12-Bone Marrow**Omadused****Age** 64 aastat**Gender** Naised**Ethnicity** Jaapani**Morphology** Ümmargused rakud**Cell type** B-raku**Growth properties** Suspension, üksikud rakud ja väikesed klastrid

KMS-12-BM rakud | 300287**Regulatiivsed andmed****Citation** KMS-12-BM (Cytioni katalooginumber 300287)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1334**Biomolekulaarsed andmed****Surface antigens** CD3 -, CD10 -, CD13 -, CD19 -, CD20 +, CD34 -, CD37 +, CD38 +, cyCD79a +, CD80 -, CD138 +, HLA-DR -, PCA-1 +, sm/cylgG -, sm/cylgM -, sm/cykappa -, sm/cylambda -**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 5×10^5 rakku/ml ja hoidke rakkude kontsentratsioon vahemikus 3×10^5 kuni 1×10^6 rakku/ml optimaalse kasvu tagamiseks.**Seeding density** 5×10^5 rakku/ml**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

KMS-12-BM rakud | 300287**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

KMS-12-BM rakud | 300287

**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 / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.