

KU812 rakud | 305306

Üldine teave

Description

KU812 rakuliin on inimese leukeemiline rakuliin, mis on algselt saadud kroonilise müelogeense leukeemiaga (CML) patsiendilt blastilise kriisi faasis. See on märkimisväärne oma võime poolest diferentseeruda spetsiifilistes tingimustes basofiilseks ja erütroidseks liiniks, mis muudab selle väärtuslikuks vahendiks vereloome diferentseerumise ja sellega seotud pahaloomuliste haiguste uurimisel. Rakuliinil on basofiilsete eellaste tunnused, sealhulgas metakromaatilised graanulid, mis on positiivsed toluidiinsinise ja astrosinise värvimise suhtes, ning see sünteesib histamiini, mis viitab basofiilsele aktiivsusele.

KU812 rakud on eriti olulised komplemendi aktiveerimisega seotud pseudoallergia (CARPA) ja basofiilide poolt vahendatud ülitundlikkusreaktsioonide uurimisel. Selle kasulikkus tuleneb nende tugevast reaktsioonist komplemendi valkudele, nagu C3a ja C5a, mis vallandavad histamiini ja teisi põletikuvahendajaid, imiteerides pseudoallergilisi reaktsioone. KU812 rakud ekspresseerivad rakupinna markereid, nagu CD63 ja CD203c, mis on seotud basofiilide aktiveerimise ja degranulatsiooniga. Neid markereid on kasutatud volutsütomeetriapõhistes protokollides nanomeditsiinide ja muude bioloogiliste ravimite immunoloogilise sobivuse hindamiseks.

Lisaks sellele näitavad KU812 rakud erütroidi diferentseerumise potentsiaali, kui neid kasvatatakse erütropoetiiniga täiendatud tingimustes. See hõlmab spontaanset küpsemist erütrooidseteks rakkudeks, mis on võimelised sünteesima erinevaid hemoglobiini, näiteks täiskasvanud ja loote vorme. Need omadused rõhutavad nende kasulikkust erütropoesia uurimisel koos basofiilse diferentseerumisega, muutes KU812 mitmekülgseks mudeliks hematoloogilistes uuringutes.

Organism	Inimene
Tissue	Perifeerne veri
Disease	Krooniline müelogeenne leukeemia, BCR-ABL1-positiivne
Synonyms	Ku812, KU-812, KU.812, KU 812, KU 812

Omadused

Age	38 aastat
Gender	Mees
Ethnicity	Jaapani
Morphology	Lümfoblastilaadsed
Cell type	Basofiilide progenitorrakud

KU812 rakud | 305306

Growth properties Peatamine

Regulatiivsed andmed

Citation KU812 (Cytioni katalooginumber 305306)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0379

Biomolekulaarsed andmed

Antigen expression CD3, ANPEP (CD13)

Mutational profile Mutatsioon: TP53, p.Lys132Arg (c.395A>G), homosügootne; geenifusion: BCR-ABL, BCR ekson 14 fusioon ABL1 ekson 2 (b3a2 transkriptsioon)

Karyotype Rakkudes on vähemalt üks Ph1 (Philadelphia) kromosoom.

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, lisada 2,5 g/l glükoosi ja 10 mM HEPES

Subculturing Koguge suspensioonirakud 15 ml tuubi ja peske kleepunud rakud ettevaatlikult PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium (kasutage 3-5 ml T25 kolvide puhul ja 5-10 ml T75 kolvide puhul). Kandke Accutase'i (1-2 ml T25 kolvidesse, 2,5 ml T75 kolvidesse), tagades rakukihi täieliku katvuse. Laske rakkudel 10 minutit toatemperatuuril inkubeerida. Pärast inkubeerimist ühendage ja tsentrifuugige nii suspensioon kui ka adherentsed rakud. Pärast tsentrifuugimist resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult ja kandke raku suspensioon uutesse kolvidesse, mis sisaldavad värsket söötmeainet.

Seeding density 3×10^5 rakku/ml

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

KU812 rakud | 305306

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.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialid 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 tervikluse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja kohe kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialid 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 vialid ettevaatlikult ja viige rakususpensioon 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 usaldusväärseid katsetulemusi.

Incubation Atmosphere

37°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°C . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

KU812 rakud | 305306

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 / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

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

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