Product sheet

KMS-12-PE-kennot | 300286

Yleisiä tietoja

Description	KMS-12-PE-solulinja, joka on peräisin saman potilaan pleuraeffuusiosta, eroaa merkittävästi KMS-12-BM:stä useiden seikkojen osalta. KMS-12-PE-solut edustavat terminaalisesti erilaistuneempaa plasmasoluvaihetta, mistä on osoituksena CD20:n puuttuminen mutta CD38:n ja PCA-1:n jatkuva ilmentyminen. KMS-12-PE:n silmiinpistävä piirre on sen kyky tuottaa ja erittää ektooppisesti sylkityyppistä amylaasia sekä potilaan pleuraeritteessä että viljelyssä, mikä tekee siitä ainutlaatuisen ihmisen myeloomasolulinjojen joukossa. Tämä ilmiö liittyy kromosomideleetioon lähellä aluetta, jossa amylaasigeeni sijaitsee, erityisesti del(1)(p22→pter), joka havaittiin merkittävässä osassa KMS-12-PE:n soluja. Näistä erilaisista eroista huolimatta sekä KMS-12-PE:llä että KMS-12-BM:llä on sama kloonimerkki, translokaatio t(11;14)(q13;q32), joka on yleinen myeloomatapauksissa. KMS-12-PE:n soluissa on kuitenkin vähemmän kromosomipoikkeavuuksia kuin KMS-12-BM:ssä, ja ne ovat yleensä hypodiploidisia. Kuten KMS-12-BM, KMS-12-PE ei tuota immunoglobuliineja, ei pinta- eikä eritysmuodossa, vaikka soluilla on hyvin kehittynyt endoplasminen retikulum. Molempien solulinjojen puuttuva kasvainvaikutus, vaikka ne kasvavat aggressiivisesti in vitro, ja niiden vakaa pitkäaikainen lisääntyminen seerumittomassa väliaineessa tekevät niistä arvokkaita välineitä myelooman biologian tutkimiseen, erityisesti muiden kuin Ig:tä tuottavien myeloomien yhteydessä.
Organism	Ihminen
Tissue	Pleuraeffuusio
Disease	Multippeli myelooma
Synonyms	KMS 12 PE, KMS-12_PE, KMS-12PE, KMS-12-PE, KMS12-PE, KMS12PE, Kawasaki Medical School-12-Pleuraalinen effuusio

Ominaisuudet

Age	64 vuotta
Gender	Nainen
Ethnicity	Japanilainen
Morphology	Pyöreät kennot
Cell type	B-solu
Growth properties	Suspension, yksittäiset solut ja pienet klusterit

KMS-12-PE-kennot | 300286

Sääntelytiedot

Citation	KMS-12-PE (Cytionin luettelonumero 300286)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1333

Biomolekyylitiedot

Surface antigens	CD3 -, CD4 -, CD13 -, CD14 -, CD15 -, CD19 -, CD20 -, CD34 -, CD38 +, CD138 +, HLA-DR +, PCA-1 +
Tumorigenic	Ei aiheuta kasvaimia alastomilla hiirillä
Products	Ei immunoglobuliinin tuotantoa
Mutational profile	Translokaatio: t(11;14)(q13;q32)

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Subculturing	Ylläpidä viljelmiä lisäämällä tai vaihtamalla kasvualusta säännöllisesti. Aloita viljelyt tiheydellä 5 x 10^5 solua/ml ja pidä solupitoisuus välillä 3 x 10^5 – 1 x 10^6 solua/ml optimaalisen kasvun saavuttamiseksi.
Seeding density	5 x 10^5 solua/ml
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

KMS-12-PE-kennot | 300286

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.