

KU812 Solut | 305306

Yleisiä tietoja

Description

KU812-solulinja on ihmisen leukemiasolulinja, joka on alun perin peräisin potilaasta, jolla on krooninen myeloinen leukemia (CML) blastisessa kriisivaiheessa. Se on tunnettu kyvystään erilaistua basofiiliseksi ja erytroidiseksi linjaksi tietyissä olosuhteissa, mikä tekee siitä arvokkaan välineen hematopoeettisen erilaistumisen ja siihen liittyvien maligniteettien tutkimiseen. Solulinjalla on basofiilisten esiasteiden piirteitä, kuten metakromaattisia granuloita, jotka ovat positiivisia toluidiinisiin- ja astra-sinivärjäyksessä, ja se syntetisoi histamiinia, mikä viittaa basofiiliseen aktiivisuuteen.

KU812-solut ovat erityisen tärkeitä tutkittaessa komplementtiaktivaatioon liittyvää pseudoallergiaa (CARPA) ja basofiilien välittämiä yliherkkyysoireita. Tämä hyöty johtuu niiden vahvasta vasteesta komplementtiproteiineille, kuten C3a:lle ja C5a:lle, jotka saavat aikaan histamiinin ja muiden tulehduksen välittäjäaineiden vapautumisen jäljitellen pseudoallergisia reaktioita. KU812-solut ilmentävät solupinnan merkkiaineita, kuten CD63 ja CD203c, jotka liittyvät basofiilien aktivoitumiseen ja degranulaatioon. Näitä merkkiaineita on käytetty virtausytometriassa perustuvissa protokollissa nanomedikaalien ja muiden biologisten lääkkeiden immunologisen yhteensopivuuden arvioimiseksi.

Lisäksi KU812-solut osoittavat erytroidien erilaistumispotentialiaa, kun niitä viljellään erytropoietiinillä täydennetyissä olosuhteissa. Tähän sisältyy spontaani kypsyminen erytroidisoluiksi, jotka kykenevät syntetisoimaan erilaisia hemoglobiineja, kuten aikuisten ja sikiön muotoja. Nämä ominaisuudet korostavat niiden hyödyllisyyttä erytropoieesin tutkimisessa basofiilisen erilaistumisen ohella, mikä tekee KU812:sta monipuolisen mallin hematologiseen tutkimukseen.

Organism	Ihminen
Tissue	Perifeerinen veri
Disease	Krooninen myelogeeninen leukemia, BCR-ABL1-positiivinen
Synonyms	Ku812, KU-812, KU.812, KU 812, KU 812

Ominaisuudet

Age	38 vuotta
Gender	Mies
Ethnicity	Japanilainen
Morphology	Lymfoblastien kaltaiset
Cell type	Basofiilien esisolu

KU812 Solut | 305306

Growth properties Jousitus

Säätelytiedot

Citation KU812 (Cytionin luettelonumero 305306)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0379

Biomolekyyli tiedot

Antigen expression CD3, ANPEP (CD13)

Mutational profile Mutaatio: TP53, p.Lys132Arg (c.395A>G), homotsygoottinen: BCR-ABL, BCR:n eksoni 14 fuusioitunut ABL1:n eksoniin 2 (b3a2 transkriptio)

Karyotype Soluissa on vähintään yksi Ph1 (Philadelphia) -kromosomi.

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:ää, lisätään 2,5 g/l glukoosia ja 10 mM HEPES

Subculturing Kerää suspensiosolut 15 ml:n putkeen ja pese kiinni olevat solut varovasti PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia (3-5 ml T25-pulloissa ja 5-10 ml T75-pulloissa). Levitä Accutasea (1-2 ml T25-pulloihin, 2,5 ml T75-pulloihin) varmistaen, että solukerros peittyy kokonaan. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 10 minuuttia. Inkuboinnin jälkeen yhdistetään ja sentrifugoidaan sekä suspensio että adherentit solut. Sentrifugoinnin jälkeen solupelletti suspendoidaan varovasti uudelleen ja siirretään solususpensio uusiin pulloihin, jotka sisältävät tuoretta väliainetta.

Seeding density 3×10^5 solua/ml

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

KU812 Solut | 305306

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.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

KU812 Solut | 305306

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä 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

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

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.