

KU812 sejtek | 305306

Általános információk

Description

A KU812 sejtvonal egy humán leukémiás sejtvonal, amely eredetileg egy krónikus myelogén leukémiában (CML) szenvedő, a blasztikus krízis fázisában lévő betegből származik. Figyelemre méltó az a képessége, hogy meghatározott körülmények között képes bazofil és eritroid vonalba differenciálódni, ami értékes eszközzé teszi a vérképzőszervi differenciálódás és a kapcsolódó malignitások tanulmányozására. A sejtvonal a bazofil prekursorok jellemzőit mutatja, beleértve a metakromatikus granulomok jelenlétét, amelyek pozitívak toluidinkék és asztrakék festésre, és hisztamin szintetizál, ami a bazofil aktivitásra utal.

A KU812 sejtek különösen fontosak a komplement aktivációval kapcsolatos pseudoallergia (CARPA) és a bazofilok által közvetített túlérzékenységi reakciók vizsgálatában. Ez a hasznosság abból ered, hogy erőteljesen reagálnak az olyan komplementfehérjékre, mint a C3a és C5a, amelyek hisztamin és más gyulladásos mediátorok felszabadulását váltják ki, pseudoallergiás reakciókat imitálva. A KU812 sejtek olyan sejtfelszíni markereket expresszálnak, mint a CD63 és a CD203c, amelyek a bazofil aktivációhoz és degranulációhoz kapcsolódnak. Ezeket a markereket áramlási citometrián alapuló protokollokban alkalmazták a nanomedicinák és más biológiai készítmények immunológiai kompatibilitásának értékelésére.

A KU812 sejtek emellett erythroid differenciálódási potenciált mutatnak, ha erythropoetin-kiegészítő körülmények között tenyésztik őket. Ez magában foglalja a spontán érést olyan eritroid sejtekké, amelyek képesek különböző hemoglobinok, például felnőtt és magzati formák szintézisére. Ezek a tulajdonságok kiemelik hasznosságukat az eritropoézis tanulmányozásában a bazofil differenciálódás mellett, ami a KU812-et a hematológiai kutatások sokoldalú modelljévé teszi.

Organism	Emberi
Tissue	Perifériás vér
Disease	Krónikus myelogén leukémia, BCR-ABL1-pozitív
Synonyms	Ku812, KU-812, KU.812, KU 812, KU 812

Jellemzők

Age	38 év
Gender	Férfi
Ethnicity	Japán
Morphology	Limfoblaszt-szerű
Cell type	Bazofil progenitor sejt

KU812 sejtek | 305306

Growth properties Felfüggesztés

Szabályozási adatok

Citation KU812 (Cytion katalógusszám 305306)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0379

Biomolekuláris adatok

Antigen expression CD3, ANPEP (CD13)

Mutational profile Mutáció: TP53, p.Lys132Arg (c.395A>G), homozigóta; génfúzió: BCR-ABL, a BCR 14. exonja fuzionált az ABL1 2. exonjával (b3a2 transzkriptum)

Karyotype A sejtek legalább egy Ph1 (Philadelphia) kromoszómát tartalmaznak.

A kezelése

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion 820700a cikkszám)

Supplements Egészítsük ki a táptalajt 10% FBS-szel, adjunk hozzá 2,5 g/l glükózt és 10 mM HEPES-t

Subculturing Gyűjtse össze a szuszpenziós sejteket egy 15 ml-es csőbe, és óvatosan mossa át a megtapadt sejteket kalciumot és magnéziumot nem tartalmazó PBS-szel (T25 lombik esetén 3-5 ml-t, T75 lombik esetén 5-10 ml-t használjon). Vigyen fel Accutase-t (1-2 ml-t T25 lombikokhoz, 2,5 ml-t T75 lombikokhoz), biztosítva a sejtréteg teljes lefedettségét. Hagyjuk a sejteket 10 percig szobahőmérsékleten inkubálni. Az inkubációt követően egyesítsük és centrifugáljuk a szuszpenziót és az adhezív sejteket. A centrifugálás után óvatosan reszuszpendáljuk a sejt pelletet, és a sejtuszuszpenziót helyezzük át friss tápfolyadékot tartalmazó új lombikokba.

Seeding density 3×10^5 sejt/ml

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

KU812 sejtek | 305306

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

KU812 sejtek | 305306

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 °C és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.