

Celle KU812 | 305306

Informazioni generali

Description

La linea cellulare KU812 è una linea cellulare leucemica umana originariamente derivata da un paziente con leucemia mieloide cronica (CML) in fase di crisi blastica. Si distingue per la sua capacità di differenziarsi in linee basofile ed eritroidi in condizioni specifiche, il che la rende uno strumento prezioso per lo studio del differenziamento ematopoietico e delle neoplasie correlate. La linea cellulare presenta le caratteristiche dei precursori basofili, tra cui la presenza di granuli metacromatici positivi alla colorazione con blu di toluidina e astra blu, e sintetizza istamina, indicativa dell'attività basofila.

Le cellule KU812 sono particolarmente importanti per studiare la pseudoallergia legata all'attivazione del complemento (CARPA) e le reazioni di ipersensibilità mediate dai basofili. Questa utilità deriva dalla loro robusta risposta alle proteine del complemento come C3a e C5a, che innescano il rilascio di istamina e altri mediatori infiammatori, simulando reazioni pseudoallergiche. Le cellule KU812 esprimono marcatori della superficie cellulare come CD63 e CD203c, associati all'attivazione e alla degranulazione dei basofili. Questi marcatori sono stati impiegati in protocolli basati sulla citometria a flusso per valutare la compatibilità immunologica di nanomedicine e altri prodotti biologici.

Inoltre, le cellule KU812 dimostrano un potenziale di differenziazione eritroide quando sono coltivate in condizioni di supplemento di eritropoietina. Questo include la maturazione spontanea in cellule eritroidi in grado di sintetizzare varie emoglobine, come le forme adulte e fetali. Queste caratteristiche ne sottolineano l'utilità nello studio dell'eritropoiesi e della differenziazione basofila, rendendo KU812 un modello versatile per la ricerca ematologica.

Organism

Umano

Tissue

Sangue periferico

Disease

Leucemia mieloide cronica, BCR-ABL1 positiva

Synonyms

Ku812, KU-812, KU.812, KU 812

Caratteristiche

Age

38 anni

Gender

Uomo

Ethnicity

Giapponese

Morphology

Linfoblasto-simile

Cell type

Cellula progenitrice dei basofili

Celle KU812 | 305306

Growth properties

Sospensione

Dati normativi

Citation KU812 (numero di catalogo Cytion 305306)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0379

Dati biomolecolari

Antigen expression CD3, ANPEP (CD13)**Mutational profile** Mutazione: TP53, p.Lys132Arg (c.395A>G), omozigote; Fusione genica: BCR-ABL, esone 14 del BCR fuso con l'esone 2 di ABL1 (trascrizione b3a2)**Karyotype** Le cellule contengono almeno un cromosoma Ph1 (Philadelphia).

Manipolazione

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO₃ (articolo Cytion numero 820700a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS, aggiungere 2,5 g/L di glucosio e 10 mM di HEPES**Subculturing** Raccogliere le cellule in sospensione in una provetta da 15 ml e lavare delicatamente le cellule aderenti con PBS privo di calcio e magnesio (utilizzare 3-5 ml per le fiasche T25 e 5-10 ml per le fiasche T75). Applicare Accutase (1-2 ml per le beute T25, 2,5 ml per le beute T75) assicurando la copertura completa dello strato cellulare. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 10 minuti. Dopo l'incubazione, unire e centrifugare sia la sospensione che le cellule aderenti. Dopo la centrifugazione, risospendere accuratamente il pellet cellulare e trasferire la sospensione cellulare in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Seeding density** 3×10^5 cellule/mL**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana

Celle KU812 | 305306

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongellamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Celle KU812 | 305306

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.