Product sheet

KMS-12-PE šūnas | 300286

Vispārīga informācija

Description	KMS-12-PE šūnu līnija, kas izveidota no tā paša pacienta pleiras izplūduma, būtiski atšķiras no KMS-12-BM vairākos aspektos. KMS-12-PE šūnas pārstāv vairāk termināli diferencētu plazmatisko šūnu stadiju, uz ko norāda CD20 neesamība, bet CD38 un PCA-1 nepārtraukta ekspresija. Pārsteidzoša KMS-12-PE iezīme ir tās spēja ektopiski ražot un izdalīt siekalu tipa amilāzi gan pacienta pleiras izplūdumā, gan kultūrā, padarot to unikālu starp cilvēka mielomas šūnu līnijām. Šis fenomens ir saistīts ar hromosomu deleciju amilazes gēna atrašanās vietas tuvumā, konkrēti del(1)(p22→pter), kas novērota ievērojamā daļā KMS-12-PE šūnu. Neraugoties uz šīm atšķirībām, gan KMS-12-PE, gan KMS-12-BM ir viens un tas pats klona marķieris - translokācija t(11;14)(q13;q32), kas ir izplatīta mielomas gadījumos. Tomēr KMS-12-PE šūnām ir mazāk hromosomu anomāliju nekā KMS-12-BM, un tām ir tendence būt hipodiploīdām. Tāpat kā KMS-12-BM, arī KMS-12-PE neražo imūnglobulīnus ne virsmas, ne sekrēcijas formā, lai gan šūnām ir labi attīstīts endoplazmas tīkls. Abi šūnu līnijas nav tumorigēnas, neraugoties uz to agresīvo in vitro augšanu, un to stabilā ilgtermiņa proliferācija vidē, kas nesatur serumu, padara tās par vērtīgiem instrumentiem mielomas bioloģijas izpētei, jo īpaši saistībā ar mielomu, kas neražo imūndziedzerus.
Organism	Cilvēks
Tissue	Pleiras izsvīdums
Disease	Multiplā mieloma
Synonyms	KMS 12 PE, KMS-12_PE, KMS-12PE, KMS-12PE, KMS12-PE, KMS12PE, Kawasaki Medical School-12-Pleirālā efūzija

Raksturojums

Age	64 gadi
Gender	Sievietes
Ethnicity	Japāņu
Morphology	Apaļas šūnas
Cell type	B šūna
Growth properties	Suspensija, atsevišķas šūnas un mazi klasteri

Normatīvie dati

KMS-12-PE šūnas | 300286

Citation	KMS-12-PE (Cytion kataloga numurs 300286)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1333

Biomolekulārie dati

Surface antigens	CD3 -, CD4 -, CD13 -, CD14 -, CD15 -, CD19 -, CD20 -, CD34 -, CD38 +, CD138 +, HLA-DR +, PCA-1 +
Tumorigenic	Nav tumorogēnisks nude pelēm
Products	Nav imūnglobulīnu ražošanas
Mutational profile	Translokācija: t(11;14)(q13;q32)

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Subculturing	Kultūras uzturiet, periodiski pievienojot vai nomainot barotni. Kultūras uzsāciet ar blīvumu 5 x 10^5 šūnas/ml un uzturiet šūnu koncentrāciju diapazonā no 3 x 10^5 līdz 1 x 10^6 šūnas/ml, lai nodrošinātu optimālu augšanu.
Seeding density	5 x 10^5 šūnas/ml
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

KMS-12-PE šūnas | 300286

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.