

KU812 šūnas | 305306

Vispārīga informācija

Description

KU812 šūnu līnija ir cilvēka leukēmisko šūnu līnija, kas sākotnēji iegūta no pacienta ar hronisku mielogēnu leukēmiju (HML) blastiskās krīzes fāzē. Tā izceļas ar spēju noteiktos apstākļos diferencēties bazofilā un eritroīdā līnijā, padarot to par vērtīgu instrumentu asinsrades diferenciacijas un ar to saistīto ļaundabīgo audzēju izpētei. Šai šūnu līnijai piemīt bazofilo prekursoru pazīmes, tostarp metahromatisku granulu klātbūtne, kas ir pozitīvas toluīdīna zilajam un astra zilajam krāsojumam, un tā sintezē histamīnu, kas norāda uz bazofilu aktivitāti.

KU812 šūnas ir īpaši nozīmīgas, pētot ar komplementa aktivāciju saistītu pseidoalerģiju (CARPA) un paaugstinātas jutības reakcijas, ko mediē bazofili. Šo lietderību nosaka to spēcīgā reakcija uz komplementa proteīniem, piemēram, C3a un C5a, kas izraisa histamīna un citu iekaisuma mediatoru izdalīšanos, imitējot pseidoalerģiskas reakcijas. KU812 šūnas ekspresē tādus šūnu virsmas marķierus kā CD63 un CD203c, kas ir saistīti ar bazofilu aktivāciju un degranulāciju. Šie marķieri ir izmantoti uz plūsmas citometriju balstītos protokolos, lai novērtētu nanomedicīnu un citu bioloģisko zāļu imunoloģisko saderību.

Turklāt KU812 šūnas uzrāda eritroīdu diferenciacijas potenciālu, ja tās kultivē ar eritropoētīnu papildinātos apstākļos. Tas ietver spontānu nobriešanu par eritroīdām šūnām, kas spēj sintezēt dažādus hemoglobīnus, piemēram, pieaugušo un augļa formas. Šīs īpašības uzsver to lietderību eritropoēzes un bazofilu diferenciacijas izpētē, padarot KU812 par daudzpusīgu modeli hematoloģiskiem pētījumiem.

Organism	Cilvēks
Tissue	Perifērās asinis
Disease	Hroniska mielogēna leukēmija, BCR-ABL1 pozitīva
Synonyms	KU812, KU-812, KU.812, KU 812, KU 812

Raksturojums

Age	38 gadi
Gender	Vīrieši
Ethnicity	Japāņu
Morphology	Limfoblastiem līdzīgs
Cell type	Bazofilu progenitoru šūnas
Growth properties	Apturēšana

KU812 šūnas | 305306

Normatīvie dati

Citation	KU812 (Cytion kataloga numurs 305306)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0379

Biomolekulārie dati

Antigen expression	CD3, ANPEP (CD13)
Mutational profile	Mutācija: Lys132Arg (c.395A>G), homozigotiska; gēnu saplūšana: BCR-ABL, BCR eksons 14 saplūdis ar ABL1 eksonu 2 (b3a2 transkripts)
Karyotype	Šūnās ir vismaz viena Ph1 (Filadelfijas) hromosoma.

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildiniet barotni ar 10% FBS, pievienojiet 2,5 g/l glikozes un 10 mM HEPES
Subculturing	Savāc suspensijas šūnas 15 ml mēģenē un saudzīgi izmazgā pielipušās šūnas ar PBS bez kalcija un magnija (T25 kolbām izmanto 3-5 ml, bet T75 kolbām - 5-10 ml). Uzklājiet Accutase (1-2 ml T25 kolbām, 2,5 ml T75 kolbām), nodrošinot pilnīgu šūnu slāņa pārklājumu. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 10 minūtes. Pēc inkubācijas apvienot un centrifugēt gan suspensiju, gan pielipušās šūnas. Pēc centrifugēšanas uzmanīgi resuspendēt šūnu granulas un pārvietot šūnu suspensiju jaunās kolbās ar svaigu barotni.
Seeding density	3×10^5 šūnas/ml
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
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.

KU812 šūnas | 305306

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% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

KU812 šūnas | 305306

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums 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 slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

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.