

KU812 Cellen | 305306

Algemene informatie

Description

De KU812 cellijn is een menselijke leukemische cellijn die oorspronkelijk afkomstig is van een patiënt met chronische myeloïde leukemie (CML) in de blastische crisisfase. Het is opmerkelijk dat het onder specifieke omstandigheden kan differentiëren in basofiele en erythroïde lijnen, waardoor het een waardevol hulpmiddel is voor het bestuderen van hematopoëtische differentiatie en gerelateerde maligniteiten. De cellijn vertoont kenmerken van basofiele voorlopers, waaronder de aanwezigheid van metachromatische korrels die positief zijn voor toluidineblauw en astrablauwe kleuring, en het synthetiseert histamine, indicatief voor basofiele activiteit.

KU812 cellen zijn bijzonder relevant voor het onderzoeken van complementactiveringsgerelateerde pseudoallergie (CARPA) en overgevoelighedsreacties gemedieerd door basofielen. Dit komt door hun robuuste reactie op complementproteïnen zoals C3a en C5a, die het vrijkomen van histamine en andere ontstekingsmediatoren uitlokken, waardoor pseudoallergische reacties worden nagebootst. KU812 cellen brengen markers op het celoppervlak tot expressie zoals CD63 en CD203c, die geassocieerd worden met basofiele activering en degranulatie. Deze markers zijn gebruikt in flowcytometrie-gebaseerde protocollen om de immunologische compatibiliteit van nanomedicijnen en andere biologische middelen te evalueren.

Daarnaast laten KU812 cellen erythroïde differentiatiepotentieel zien wanneer ze gekweekt worden onder omstandigheden die gesuppleerd worden met erytropoëtine. Dit omvat spontane rijping tot erythroïde cellen die verschillende hemoglobines kunnen aanmaken, zoals volwassen en foetale vormen. Deze eigenschappen onderstrepen hun nut voor het bestuderen van erytropoëse naast basofiele differentiatie, waardoor KU812 een veelzijdig model is voor hematologisch onderzoek.

Organism

Mens

Tissue

Perifeer bloed

Disease

Chronische myeloïde leukemie, BCR-ABL1 positief

Synonyms

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

Kenmerken

Age

38 jaar

Gender

Mannelijk

Ethnicity

Japans

Morphology

Lymfoblast-achtig

Cell type

Basofiele progenitorcel

KU812 Cellen | 305306

Growth properties Ophanging

Regelgevende gegevens

Citation KU812 (Cytion catalogusnummer 305306)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0379

Biomoleculaire gegevens

Antigen expression CD3, ANPEP (CD13)

Mutational profile Mutatie: TP53, p.Lys132Arg (c.395A>G), homozygoot; Genfusie: BCR-ABL, BCR exon 14 gefuseerd met ABL1 exon 2 (b3a2 transcript)

Karyotype De cellen bevatten ten minste één Ph1 (Philadelphia) chromosoom.

Omgaan met

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS, voeg 2,5 g/L glucose en 10 mM HEPES toe

Subculturing Verzamel de suspensiecellen in een buis van 15 ml en was de aanhangende cellen voorzichtig met PBS zonder calcium en magnesium (gebruik 3-5 ml voor T25-flesjes en 5-10 ml voor T75-flesjes). Breng Accutase aan (1-2 ml voor T25-flesjes, 2,5 ml voor T75-flesjes) en zorg dat de cellaag volledig bedekt wordt. Laat de cellen 10 minuten bij kamertemperatuur incuberen. Na de incubatie zowel de suspensie als de aanhangende cellen combineren en centrifugeren. Na het centrifugeren de celpellet voorzichtig resuspenden en de celsuspensie overbrengen in nieuwe kolven met vers medium.

Seeding density 3×10^5 cellen/ml

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

KU812 Cellen | 305306

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

KU812 Cellen | 305306

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.