Product sheet

Ogniwa KMS-12-PE | 300286

Informacje ogólne

Description	Linia komórkowa KMS-12-PE, utworzona z wysięku opłucnowego tego samego pacjenta, różni się znacząco od KMS-12-BM w kilku aspektach. Komórki KMS-12-PE reprezentują bardziej terminalnie zróżnicowane stadium komórek plazmatycznych, na co wskazuje brak CD20, ale utrzymująca się ekspresja CD38 i PCA-1. Uderzającą cechą KMS-12-PE jest jego zdolność do ektopowego wytwarzania i wydzielania amylazy typu ślinowego, zarówno w wysięku opłucnowym pacjenta, jak i w hodowli, co czyni go wyjątkowym wśród ludzkich linii komórkowych szpiczaka. Zjawisko to jest związane z delecją chromosomalną w pobliżu regionu, w którym znajduje się gen amylazy, w szczególności del(1)(p22→pter), obserwowaną w znacznej części komórek KMS-12-PE. Pomimo tych różnic, zarówno KMS-12-PE, jak i KMS-12-BM mają ten sam marker klonalny, translokację t(11;14)(q13;q32), która jest powszechna w przypadkach szpiczaka. Jednak komórki KMS-12-PE wykazują mniej nieprawidłowości chromosomalnych niż KMS-12-BM i mają tendencję do hipodiploidii. Podobnie jak KMS-12-BM, KMS-12-PE nie wytwarza immunoglobulin, ani w postaci powierzchniowej, ani wydzielniczej, mimo że komórki mają dobrze rozwinięte retikulum endoplazmatyczne. Brak nowotworowości w obu liniach komórkowych, pomimo ich agresywnego wzrostu in vitro, oraz ich stabilna długoterminowa proliferacja w pożywce bez surowicy sprawiają, że są one cennymi narzędziami do badania biologii szpiczaka, szczególnie w kontekście szpiczaka nieprodukującego Ig.
Organism	Człowiek
Tissue	Wysięk opłucnowy
Disease	Szpiczak mnogi
Synonyms	KMS 12 PE, KMS-12_PE, KMS-12PE, KMS12-PE, KMS12PE, Kawasaki Medical School-12-Pleural Effusion

Charakterystyka

Age	64 lata
Gender	Kobieta
Ethnicity	Japoński
Morphology	Okrągłe komórki
Cell type	Komórka B
Growth properties	Zawiesina, pojedyncze komórki i małe skupiska

Product sheet

Ogniwa KMS-12-PE | 300286

Dane regulacyjne

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

Dane biomolekularne

Surface antigens	CD3 -, CD4 -, CD13 -, CD14 -, CD15 -, CD19 -, CD20 -, CD34 -, CD38 +, CD138 +, HLA-DR +, PCA-1 +
Tumorigenic	Brak działania nowotworowego u nagich myszy
Products	Brak produkcji immunoglobulin
Mutational profile	Translokacja: t(11;14)(q13;q32)

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO3 (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Subculturing	Kultury należy utrzymywać poprzez okresowe dodawanie lub wymianę pożywki. Kultury należy rozpocząć od gęstości 5 x 10^5 komórek/ml i utrzymywać stężenie komórek w zakresie od 3 x 10^5 do 1 x 10^6 komórek/ml, aby zapewnić optymalny wzrost.
Seeding density	5 x 10^5 komórek/ml
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Ogniwa KMS-12-PE | 300286

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.

2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.

3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.

4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.

5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.

6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.

7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.

8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

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

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.
Profil STR	**PEZ6**: MNNG-HOS (CL #5)