

Ogniwa KMS-12-BM | 300287

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa KMS-12-BM to ludzka szpiczakowa linia komórkowa utworzona ze szpiku kostnego pacjenta z nieprodukującym szpiczakiem mnogim. Ta linia komórkowa reprezentuje niedojrzały plazmacytoidalny etap różnicowania komórek B, charakteryzujący się ekspresją markerów powierzchniowych CD20, CD38 i PCA-1, ale brakiem produkcji immunoglobulin. Komórki wyróżniają się zniekształconą morfologią, a wiele z nich wykazuje cechy wielojądrowe i olbrzymie. Ultrastrukturalnie, komórki KMS-12-BM posiadają dobrze rozwinięte szorstkie retikulum endoplazmatyczne i jajowate ekscentryczne jądra z obwodowym rozkładem chromatyny, typowym dla komórek plazmacytoidalnych.

Komórki KMS-12-BM wykazują nieprawidłowości chromosomalne, w szczególności wzajemną translokację t(11;14)(q13;q32), która jest często związana ze szpiczakiem mnogim. Komórki te wykazują również szeroki zakres liczby chromosomów, od hipodiploidalnych do poliploidalnych, co wskazuje na znaczną niestabilność genomu. W przeciwieństwie do swojego odpowiednika KMS-12-PE, linia KMS-12-BM nie wytwarza amylazy i nie wydziela immunoglobulin ani nie wykazuje ekspresji powierzchniowej, co czyni ją odpowiednią do badań obejmujących szpiczaka niewytwarzającego immunoglobulin. Ponadto wykazuje niską wydajność klonowania w warunkach hodowli na miękkim agarze, z mniej niż 0,1% tworzeniem kolonii i nie ma właściwości nowotworowych po wstrzyknięciu nagim myszom.

Organism Człowiek

Tissue Szpik kostny

Disease Szpiczak mnogi

Synonyms KMS 12 BM, KMS-12BM, KMS12-BM, KMS12BM, KMS-12, KMS12, Kawasaki Medical School-12-Bone Marrow

Charakterystyka

Age 64 lata

Gender Kobieta

Ethnicity Japoński

Morphology Okrągłe komórki

Cell type Komórka B

Growth properties Zawiesina, pojedyncze komórki i małe skupiska

Ogniwa KMS-12-BM | 300287

Dane regulacyjne

Citation	KMS-12-BM (numer katalogowy Cytion 300287)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1334

Dane biomolekularne

Surface antigens	CD3 -, CD10 -, CD13 -, CD19 -, CD20 +, CD34 -, CD37 +, CD38 +, cyCD79a +, CD80 -, CD138 +, HLA-DR -, PCA-1 +, sm/cyIgG -, sm/cyIgM -, sm/cykappa -, sm/cylambda -
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 NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Subculturing	Kultury należy utrzymywać poprzez okresowe dodawanie lub wymianę pożywki. Kultury należy rozpocząć od gęstości 5×10^5 komórek/ml i utrzymywać stężenie komórek w zakresie od 3×10^5 do 1×10^6 komórek/ml, aby zapewnić optymalny wzrost.
Seeding density	5×10^5 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-BM | 300287

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 przepływowej, 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 $300 \times g$ 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 zawieszonych, 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% CO_2 , 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 czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Ogniwa KMS-12-BM | 300287

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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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 / Profil genetyczny / HLA

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: MOLT-3