

Komórki KU812 | 305306

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa KU812 to ludzka białaczkowa linia komórkowa pierwotnie pochodząca od pacjenta z przewlekłą białaczką szpikową (CML) w fazie kryzysu blastycznego. Wyróżnia się zdolnością do różnicowania się w linie bazofilowe i erytroidalne w określonych warunkach, co czyni ją cennym narzędziem do badania różnicowania krwiotwórczego i powiązanych nowotworów złośliwych. Linia komórkowa wykazuje cechy prekursorów bazofilowych, w tym obecność ziarnistości metachromatycznych, które są dodatnie w barwieniu błękitem toluidyny i błękitem astra, a także syntetyzuje histaminę, co wskazuje na aktywność bazofilową.

Komórki KU812 są szczególnie istotne w badaniu pseudoalergii związanej z aktywacją dopełniacza (CARPA) i reakcji nadwrażliwości, w których pośredniczą bazofile. Ta użyteczność wynika z ich silnej odpowiedzi na białka dopełniacza, takie jak C3a i C5a, które wywołują uwalnianie histaminy i innych mediatorów stanu zapalnego, naśladując reakcje pseudoalergiczne. Komórki KU812 wykazują ekspresję markerów powierzchniowych, takich jak CD63 i CD203c, które są związane z aktywacją i degranulacją bazofilów. Markery te zostały wykorzystane w protokołach opartych na cytometrii przepływowej do oceny zgodności immunologicznej nanomedycyny i innych leków biologicznych.

Dodatkowo, komórki KU812 wykazują potencjał różnicowania erytroidalnego, gdy są hodowane w warunkach suplementacji erytropoetyną. Obejmuje to spontaniczne dojrzewanie do komórek erytroidalnych zdolnych do syntezy różnych hemoglobin, takich jak formy dorosłe i płodowe. Cechy te podkreślają ich przydatność w badaniu erythropoezy wraz z różnicowaniem bazofilów, czyniąc KU812 wszechstronnym modelem do badań hematologicznych.

| | |
|-----------------|--|
| Organism | Człowiek |
| Tissue | Krew obwodowa |
| Disease | Przewlekła białaczka szpikowa, BCR-ABL1 dodatnia |
| Synonyms | Ku812, KU-812, KU.812, KU 812 |

Charakterystyka

| | |
|-------------------|---------------------------------|
| Age | 38 lat |
| Gender | Mężczyzna |
| Ethnicity | Japoński |
| Morphology | Podobne do limfoblastów |
| Cell type | Komórki progenitorowe bazofilów |

Komórki KU812 | 305306

Growth properties Zawieszenie

Dane regulacyjne

Citation KU812 (numer katalogowy Cytion 305306)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0379

Dane biomolekularne

Antigen expression CD3, ANPEP (CD13)

Mutational profile Mutacja: TP53, p.Lys132Arg (c.395A>G), homozygotyczny; Fuzja genów: BCR-ABL, ekson 14 BCR połączony z eksonem 2 ABL1 (transkrypt b3a2)

Karyotype Komórki zawierają co najmniej jeden chromosom Ph1 (Philadelphia).

Obsługa

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)

Supplements Uzupelnic pożywkę 10% FBS, dodac 2,5 g/l glukozy i 10 mM HEPES

Subculturing Zebrać komórki zawiesiny do probówki o pojemności 15 ml i delikatnie przemyć przylegające komórki PBS pozbawionym wapnia i magnezu (użyć 3-5 ml dla kolb T25 i 5-10 ml dla kolb T75). Nałożyć Accutase (1-2 ml na kolby T25, 2,5 ml na kolby T75), zapewniając pełne pokrycie warstwy komórek. Pozostawić komórki do inkubacji w temperaturze pokojowej przez 10 minut. Po inkubacji połączyć i odwirować zarówno zawiesinę, jak i przylegające komórki. Po odwirowaniu ostrożnie zawiesić osad komórek i przenieść zawiesinę komórek do nowych kolb zawierających świeżą pożywkę.

Seeding density 3×10^5 komórek/ml

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Komórki KU812 | 305306

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.

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 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% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki KU812 | 305306

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 / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone 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.