

Células KMS-12-PE | 300286

Informações gerais

Description

A linha celular KMS-12-PE, estabelecida a partir do derrame pleural do mesmo doente, difere significativamente da KMS-12-BM em vários aspectos. As células KMS-12-PE representam um estágio de células plasmáticas mais terminalmente diferenciado, como indicado pela ausência de CD20, mas pela expressão contínua de CD38 e PCA-1. Uma característica marcante da KMS-12-PE é a sua capacidade de produzir e segregar ectopicamente um tipo de amilase salivar, tanto no derrame pleural do doente como em cultura, o que a torna única entre as linhas celulares de mieloma humano. Este fenómeno está associado a uma deleção cromossômica perto da região onde se localiza o gene da amilase, especificamente del(1)(p22→pter), observada numa proporção significativa de células KMS-12-PE.

Apesar destas diferenças distintas, tanto as KMS-12-PE como as KMS-12-BM partilham o mesmo marcador clonal, a translocação t(11;14)(q13;q32), que é comum nos casos de mieloma múltiplo. No entanto, as células KMS-12-PE apresentam menos anomalias cromossômicas do que as KMS-12-BM e tendem a ser hipodiplóides. Tal como as KMS-12-BM, as KMS-12-PE não produzem imunoglobulinas, nem na forma de superfície nem na forma secretora, apesar de as células terem um retículo endoplasmático bem desenvolvido. A ausência de tumorigenicidade em ambas as linhas celulares, apesar do seu crescimento agressivo in vitro, e a sua proliferação estável a longo prazo em meio sem soro tornam-nas ferramentas valiosas para o estudo da biologia do mieloma, particularmente no contexto do mieloma não produtor de Ig.

Organism Humano

Tissue Derrame pleural

Disease Mieloma múltiplo

Synonyms KMS 12 PE, KMS-12_PE, KMS-12PE, KMS12-PE, KMS12PE, Kawasaki Medical School-12-Efusão pleural

Caraterísticas

Age 64 anos

Gender Feminino

Ethnicity Japonês

Morphology Células redondas

Cell type Célula B

Growth properties Suspensão, células individuais e pequenos aglomerados

Células KMS-12-PE | 300286**Dados regulamentares****Citation** KMS-12-PE (número de catálogo Cytion 300286)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1333**Dados biomoleculares****Surface antigens** CD3 -, CD4 -, CD13 -, CD14 -, CD15 -, CD19 -, CD20 -, CD34 -, CD38 +, CD138 +, HLA-DR +, PCA-1 +**Tumorigenic** Não tumorigénico em ratinhos nus**Products** Sem produção de imunoglobulinas**Mutational profile** Translocação: t(11;14)(q13;q32)**Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Subculturing** Mantenha as culturas adicionando ou substituindo periodicamente o meio. Inicie as culturas com uma densidade de 5×10^5 células/ml e mantenha a concentração celular dentro da faixa de 3×10^5 a 1×10^6 células/ml para um crescimento ideal.**Seeding density** 5×10^5 células/ml**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células KMS-12-PE | 300286

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células KMS-12-PE | 300286

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.