Product sheet

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 estádio de células plasmáticas mais terminalmente diferenciado, como indicado pela ausência de CD20, mas pela expressão contínua de CD38 e PCA-1. Uma caraterística 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 cromossómica 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 cromossómicas 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 x 10^5 células/ml e mantenha a concentração celular dentro da faixa de 3 x 10^5 a 1 x 10^6 células/ml para um crescimento ideal.
Seeding density	5 x 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 optimizados 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 x 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%$_{CO2}$, 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 e Análise Molecular

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.