

Células KU812 | 305306

Informações gerais

Description

A linha de células KU812 é uma linha de células leucémicas humanas originalmente derivada de um doente com leucemia mieloide crónica (LMC) na fase de crise blástica. É notável pela sua capacidade de se diferenciar em linhagens basófilas e eritróides em condições específicas, o que a torna uma ferramenta valiosa para o estudo da diferenciação hematopoiética e de doenças malignas relacionadas. A linha celular apresenta características de precursores basófilos, incluindo a presença de grânulos metacromáticos que são positivos para a coloração com azul de toluidina e azul de astra, e sintetiza histamina, indicativa de atividade basófila.

As células KU812 são particularmente relevantes na investigação da pseudoalergia relacionada com a ativação do complemento (CARPA) e das reacções de hipersensibilidade mediadas por basófilos. Esta utilidade decorre da sua resposta robusta a proteínas do complemento como C3a e C5a, que desencadeiam a libertação de histamina e outros mediadores inflamatórios, imitando reacções pseudoalérgicas. As células KU812 expressam marcadores de superfície celular como CD63 e CD203c, que estão associados à ativação e degranulação basofílicas. Estes marcadores têm sido utilizados em protocolos baseados na citometria de fluxo para avaliar a compatibilidade imunológica de nanomedicamentos e outros produtos biológicos.

Além disso, as células KU812 demonstram potencial de diferenciação eritroide quando cultivadas em condições de suplementação com eritropoietina. Isto inclui a maturação espontânea em células eritróides capazes de sintetizar várias hemoglobinas, tais como as formas adulta e fetal. Estas características sublinham a sua utilidade no estudo da eritropoiese juntamente com a diferenciação basofílica, tornando a KU812 um modelo versátil para a investigação hematológica.

Organism	Humano
Tissue	Sangue periférico
Disease	Leucemia mielogénica crónica, BCR-ABL1 positiva
Synonyms	Ku812, KU-812, KU.812, KU 812

Caraterísticas

Age	38 anos
Gender	Masculino
Ethnicity	Japonês
Morphology	Tipo linfoblasto
Cell type	Célula progenitora de basófilos

Células KU812 | 305306

Growth properties Suspensão

Dados regulamentares

Citation KU812 (número de catálogo Cytion 305306)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0379

Dados biomoleculares

Antigen expression CD3, ANPEP (CD13)

Mutational profile Mutação: TP53, p.Lys132Arg (c.395A>G), homozigótico; Fusão de genes: BCR-ABL, exão 14 do BCR fundido com o exão 2 do ABL1 (transcrição b3a2)

Karyotype As células contêm pelo menos um cromossoma Ph1 (Philadelphia).

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, adicionar 2,5 g/L de glucose e 10 mM de HEPES

Subculturing Reunir as células em suspensão num tubo de 15 ml e lavar suavemente as células aderentes com PBS sem cálcio e magnésio (utilizar 3-5 ml para os frascos T25 e 5-10 ml para os frascos T75). Aplicar Accutase (1-2 ml para os frascos T25, 2,5 ml para os frascos T75), assegurando a cobertura total da camada celular. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 10 minutos. Após a incubação, combinar e centrifugar tanto a suspensão como as células aderentes. Após a centrifugação, ressuspender cuidadosamente o pellet de células e transferir a suspensão de células para novos frascos com meio fresco.

Seeding density 3×10^5 células/mL

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Células KU812 | 305306

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.

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, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado 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% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Células KU812 | 305306

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.

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 inspeções visuais diárias.