Product sheet

Bunky KMS-12-PE | 300286

Všeobecné informácie

Description	Bunková línia KMS-12-PE, vytvorená z pleurálneho výpotku toho istého pacienta, sa od KMS-12-BM výrazne líši v niekoľkých aspektoch. Bunky KMS-12-PE predstavujú terminálnejšie diferencované štádium plazmatických buniek, čo naznačuje neprítomnosť CD20, ale pretrvávajúca expresia CD38 a PCA-1. Pozoruhodnou vlastnosťou KMS-12-PE je jej schopnosť ektopicky produkovať a vylučovať slinný typ amylázy, a to v pleurálnom výpotku pacienta aj v kultúre, čo ju robí jedinečnou medzi ľudskými myelómovými bunkovými líniami. Tento jav súvisí s chromozomálnou deléciou v blízkosti oblasti, kde sa nachádza gén pre amylázu, konkrétne del(1)(p22→pter), ktorá sa pozorovala u značnej časti buniek KMS-12-PE. Napriek týmto rozdielom majú KMS-12-PE aj KMS-12-BM rovnaký klonálny marker, translokáciu t(11;14)(q13;q32), ktorá je bežná v prípadoch myelómu. Bunky KMS-12-PE však vykazujú menej chromozomálnych abnormalít ako KMS-12-BM a majú tendenciu byť hypodiploidné. Podobne ako KMS-12-BM, ani KMS-12-PE neprodukuje imunoglobulíny, či už v povrchovej alebo sekrečnej forme, hoci bunky majú dobre vyvinuté endoplazmatické retikulum. Absencia tumorigénnosti u oboch bunkových línií napriek ich agresívnemu rastu in vitro a ich stabilná dlhodobá proliferácia v bezsérovom médiu z nich robí cenné nástroje na štúdium biológie myelómu, najmä v kontexte myelómu neprodukujúceho Ig.
Organism	Ľudské
Tissue	Pleurálny výpotok
Disease	Mnohopočetný myelóm
Synonyms	KMS 12 PE, KMS-12_PE, KMS-12PE, KMS12-PE, KMS12PE, Kawasaki Medical School-12-Pleural Effusion

Charakteristika

Age	64 rokov
Gender	Ženy
Ethnicity	Japonský
Morphology	Okrúhle bunky
Cell type	B bunka
Growth properties	Suspenzia, jednotlivé bunky a malé zhluky

Regulačné údaje

Product sheet

Bunky KMS-12-PE | 300286

Citation	KMS-12-PE (katalógové číslo Cytion 300286)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1333

Biomolekulárne údaje

Surface antigens	CD3 -, CD4 -, CD13 -, CD14 -, CD15 -, CD19 -, CD20 -, CD34 -, CD38 +, CD138 +, HLA-DR +, PCA-1 +
Tumorigenic	Nie je tumorogénny u nahých myší
Products	Žiadna produkcia imunoglobulínov
Mutational profile	Translokácia: t(11;14)(q13;q32)

Spracovanie

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS
Subculturing	Kultúry udržiavajte pravidelným pridávaním alebo výmenou média. Kultúry začnite s hustotou 5 x 10^5 buniek/ml a pre optimálny rast udržujte koncentráciu buniek v rozmedzí 3 x 10^5 až 1 x 10^6 buniek/ml.
Seeding density	5 x 10^5 buniek/ml
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Bunky KMS-12-PE | 300286

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žiadne
Freezing Procedure	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility	Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.