Product sheet

Комірка KMS-12-PE | 300286

Загальна інформація

Description	Клітинна лінія KMS-12-PE, отримана з плеврального випоту того ж пацієнта, суттєво відрізняється від KMS-12-BM у кількох аспектах. Клітини KMS-12-PE представляють більш термінально диференційовану стадію плазматичних клітин, на що вказує відсутність CD20, але тривала експресія CD38 і PCA-1. Яскравою особливістю KMS-12-PE є її здатність ектопічно продукувати і секретувати амілазу слинного типу, як у плевральному випоті пацієнта, так і в культурі, що робить її унікальною серед клітинних ліній мієломи людини. Це явище пов'язане з хромосомною делецією поблизу ділянки, де розташований ген амілази, а саме del(1)(p22→pter), що спостерігається у значної частини клітин KMS-12-PE. Незважаючи на ці відмінності, і KMS-12-PE, і KMS-12-BM мають спільний клональний маркер - транслокацію t(11;14)(q13;q32), яка часто зустрічається при мієломній хворобі. Однак клітини KMS-12-PE мають менше хромосомних аномалій, ніж KMS-12-BM, і, як правило, є гіподиплоїдними. Як і KMS-12-BM, KMS-12-PE не виробляє імуноглобулінів ні в поверхневій, ні в секреторній формі, хоча клітини мають добре розвинений ендоплазматичний ретикулум. Відсутність пухлинної активності в обох клітинних ліній, незважаючи на їх агресивний ріст in vitro, і стабільна довготривала проліферація в безсироватковому середовищі роблять їх цінними інструментами для вивчення біології мієломної хвороби, особливо в контексті мієломної хвороби, що не продукує Ig.
Organism	Людина
Tissue	Плевральний випіт
Disease	Множинна мієлома
Synonyms	KMS 12 PE, KMS-12_PE, KMS-12PE, KMS12-PE, KMS12PE, Kawasaki Medical School-12-Pleural Effusion

Характеристики

Age	64 роки
Gender	Жінка
Ethnicity	Японський
Morphology	Круглі клітини
Cell type	B-клітина
Growth properties	Суспензія, поодинокі клітини та невеликі скупчення

Product sheet

Комірка KMS-12-PE | 300286

Нормативні дані

Citation	KMS-12-PE (номер за каталогом Cytion 300286)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1333

Біомолекулярні дані

Surface antigens	CD3 -, CD4 -, CD13 -, CD14 -, CD15 -, CD19 -, CD20 -, CD34 -, CD38 +, CD138 +, HLA-DR +, PCA-1 +
Tumorigenic	Не є пухлиногенним у голих мишей
Products	Відсутність вироблення імуноглобулінів
Mutational profile	Транслокація: t(11;14)(q13;q32)

Обробка

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO3 (номер за каталожним номером 820700a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Subculturing	Підтримуйте культури, періодично додаючи або замінюючи середовище. Починайте культури з щільністю 5 x 10^5 клітин/мл і підтримуйте концентрацію клітин в діапазоні від 3 x 10^5 до 1 x 10^6 клітин/мл для оптимального росту.
Seeding density	5 x 10^5 клітин/мл
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Комірка KMS-12-PE | 300286

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.

7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.

8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Комірка KMS-12-PE | 300286

Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.