

Клітини KU812 | 305306

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія KU812 - це лейкомічні клітини людини, отримані від пацієнта з хронічною мієлогенною лейкоїєю (ХМЛ) у фазі бластного кризу. Вона відрізняється здатністю диференціюватися в базофільну та еритроїдну лінії за певних умов, що робить її цінним інструментом для вивчення гемопоетичної диференціації та пов'язаних з нею злоякісних новоутворень. Клітинна лінія має характеристики базофільних попередників, включаючи наявність метахроматичних гранул, які позитивно забарвлюються толуїдиновим синім і астра синім, а також синтезує гістамін, що свідчить про базофільну активність.

Клітини KU812 особливо актуальні для дослідження псевдоалергії, пов'язаної з активацією комплементу (CARPA), та реакцій гіперчутливості, опосередкованих базофілами. Ця корисність зумовлена їхньою потужною реакцією на білки комплементу, такі як C3a і C5a, які викликають вивільнення гістаміну та інших медіаторів запалення, що імітують псевдоалергічні реакції. Клітини KU812 експресують маркери клітинної поверхні, такі як CD63 і CD203c, які пов'язані з базофільною активацією і дегрануляцією. Ці маркери використовуються в протокольній цитофлуориметрії для оцінки імунологічної сумісності нанопрепаратів та інших біологічних препаратів.

Крім того, клітини KU812 демонструють потенціал еритроїдного диференціювання при культивуванні в умовах, доповнених еритропоетином. Це включає спонтанне дозрівання в еритроїдні клітини, здатні синтезувати різні гемоглобіни, такі як дорослі та ембріональні форми. Ці особливості підкреслюють їх корисність у вивченні еритропоезу поряд з базофільною диференціацією, що робить KU812 універсальною моделлю для гематологічних досліджень.

Organism	Людина
Tissue	Периферична кров
Disease	Хронічна мієлогенна лейкоїя, BCR-ABL1 позитивний
Synonyms	Ku812, KU-812, KU.812, KU 812

Характеристики

Age	38 років
Gender	Чоловік
Ethnicity	Японський
Morphology	Лімфобластоподібні
Cell type	Клітина-попередник базофілів

Клітини KU812 | 305306

Growth properties Підвіска

Нормативні дані

Citation KU812 (каталожний номер 305306)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0379

Біомолекулярні дані

Antigen expression CD3, ANPEP (CD13)

Mutational profile Мутація: TP53, p.Lys132Arg (с.395A>G), гомозиготний; злиття генів: BCR-ABL, екзон 14 BCR злитий з екзоном 2 ABL1 (транскрипт b3a2)

Karyotype Клітини містять принаймні одну Ph1 (філадельфійську) хромосому.

Обробка

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO₃ (номер за каталожним номером 820700a)

Supplements Поповніть середовище 10% FBS, додайте 2,5 г/л глюкози та 10 мМ HEPES

Subculturing Зберіть суспензію клітин у пробірку на 15 мл і обережно відмийте прилиплі клітини PBS, що не містить кальцію і магнію (використовуйте 3-5 мл для колб T25 і 5-10 мл для колб T75). Нанесіть ацкутазу (1-2 мл для колб T25, 2,5 мл для колб T75), забезпечуючи повне покриття клітинного шару. Інкубуйте клітини при кімнатній температурі протягом 10 хвилин. Після інкубації об'єднайте і центрифугуйте суспензію і прилиплі клітини. Після центрифугування обережно ресуспендуйте клітинну гранулу і перенесіть клітинну суспензію в нові колби зі свіжим середовищем.

Seeding density 3×10^5 клітин/мл

Fluid renewal 2-3 рази на тиждень

Клітини KU812 | 305306

Freeze medium

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

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, зануливши 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 $300 \times g$ 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% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Hi

Клітини KU812 | 305306

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній 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.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній 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.

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 / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.