

СМК клетки | 305533

Обща информация

Description

Клетъчната линия СМК представлява модел на човешка мегакариобластна левкемия, създаден от пациент със синдром на Даун, при когото е диагностицирана остра мегакариобластна левкемия (АМКЛ). Тези клетки са от значение за изследванията върху мегакариоцитната диференциация и левкемията, свързана с тризомия 21. Клетките СМК проявяват маркери, типични за мегакариоцитите, като гликопротеините GPIIb/IIIa и GPIb, които са ключови компоненти на мембраните на тромбоцитите. Наличието на активност на тромбоцитната пероксидаза (PPO), локализирана в ядрената обвивка и ендоплазматичния ретикулум, но не и в апарата на Голджи, потвърждава мегакариоцитния произход на тези клетки. Ултраструктурният анализ разкрива наличието на цитоплазматични гранули, наподобяващи α -гранули, и разграничителни мембрани, което допълнително потвърждава тяхната мегакариоцитна природа.

СМК-клетките се характеризират с комплексен кариотип, включващ почти тетраплоидия и специфична транслокация, $der(17)t(11;17)$, която се среща и в първоначалните левкемични клетки на пациента. Тази генетична промяна свързва клетъчната линия със състоянието на заболяването при пациента, като предоставя надежден модел за изучаване на патогенезата на АМКЛ. Освен това клетъчната линия СМК може да реагира на хематопоеични растежни фактори като интерлейкин-3 (IL-3) и гранулоцитно-макрофагенен колониестимулиращ фактор (GM-CSF), които стимулират пролиферацията и диференциацията в по-зрели мегакариоцитни форми. Лечението с агенти като форбол естер (TPA) засилва експресията на мегакариоцитни маркери и предизвиква морфологични промени, включително цитоплазматична сегментация, наподобяваща образуването на тромбоцити. Тези характеристики правят СМК ценен инструмент за изследване на развитието на мегакариоцитната линия, ефектите на тризомия 21 върху хематопоезата и механизмите на левкемогенезата при синдрома на Даун.

Organism

Човек

Tissue

Периферна кръв

Disease

Миелоидна левкемия, свързана със синдрома на Даун

Характеристики

Age

10 месеца

Gender

Мъжки

Ethnicity

Японски

Growth properties

Окачване

Регулаторни данни

CMK клетки | 305533

Citation CMK (каталожен номер на Cytion 305533)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0216

Биомолекулярни данни

Mutational profile Мутация: TP53, p.Asp49His (с.145G>C), хетерозиготна; Генна фузия: TP53-FXR2

Работа с

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)**Supplements** Допълнете средата с 20% FBS**Subculturing** Съберете суспендираните клетки в 15-милилитрова епруветка и внимателно промийте прилепналите клетки с PBS без калций и магнезий (използвайте 3-5 ml за колби T25 и 5-10 ml за колби T75). Нанесете Accutase (1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75), като се уверите, че покрива изцяло клетъчния слой. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 10 минути. След инкубацията комбинирайте и центрофугирайте суспензията и адхезивните клетки. След центрофугирането внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета и прехвърлете клетъчната суспензия в нови колби, съдържащи свежа среда.**Seeding density** $3-5 \times 10^5$ /мл**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

СМК клетки | 305533

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°C , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

**Shipping
Conditions**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

СМК клетки | 305533

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility

Замърсяването с микопlasма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микопlasма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.