

CMK buňky | 305533

Obecné informace

Description

Buněčná linie CMK je model lidské megakaryoblastické leukémie, který byl vytvořen z vzorku pacienta s Downovým syndromem, u něhož byla diagnostikována akutní megakaryoblastická leukémie (AMKL). Tyto buňky mají význam pro výzkum megakaryocytární diferenciace a leukémie spojené s trizomií 21. Buňky CMK vykazují markery typické pro megakaryocyty, jako jsou glykoproteiny GPIIb/IIIa a GPIb, které jsou klíčovými složkami membrán krevních destiček. Přítomnost aktivity trombocytární peroxidázy (PPO), lokalizované v jaderné obálce a endoplazmatickém retikulu, nikoli však v Golgiho aparátu, potvrzuje megakaryocytární původ těchto buněk. Ultrastrukturální analýza odhaluje existenci cytoplazmatických granulí připomínajících α -granule a demarkačních membrán, což dále potvrzuje jejich megakaryocytární povahu.

Buňky CMK se vyznačují komplexním karyotypem, včetně téměř tetraploidie a specifické translokace der(17)t(11;17), která se vyskytuje také v původních leukemických buňkách pacienta. Tato genetická alterace spojuje buněčnou linii s chorobným stavem pacienta a poskytuje tak spolehlivý model pro studium patogeneze AMKL. Kromě toho může buněčná linie CMK reagovat na hematopoetické růstové faktory, jako je interleukin-3 (IL-3) a faktor stimulující kolonie granulocytů a makrofágů (GM-CSF), které stimulují proliferaci a diferenciaci do zralějších megakaryocytárních forem. Léčba látkami, jako je forbolester (TPA), zvyšuje expresi megakaryocytárních markerů a vyvolává morfologické změny, včetně segmentace cytoplazmy připomínající tvorbu krevních destiček. Díky těmto vlastnostem je CMK cenným nástrojem pro zkoumání vývoje megakaryocytární linie, vlivu trizomie 21 na hematopoézu a mechanismů leukemogeneze u Downova syndromu.

Organism	Člověk
Tissue	Periferní krev
Disease	Mieloidní leukémie spojená s Downovým syndromem

Charakteristika

Age	10 měsíců
Gender	Muži
Ethnicity	Japonský
Growth properties	Zavěšení

Regulační údaje

Citation	CMK (katalogové číslo Cytion 305533)
----------	--------------------------------------

CMK buňky | 305533

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0216

Biomolekulární data

Mutational profile Mutace: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), heterozygotní; Genová fúze: TP53-FXR2

Zpracování

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplněte médium o 20 % FBS**Subculturing** Shromážděte suspenzi buněk do 15 ml zkumavky a jemně promyjte adherentní buňky PBS bez vápníku a hořčíku (použijte 3-5 ml pro baňky T25 a 5-10 ml pro baňky T75). Aplikujte Accutase (1-2 ml pro baňky T25, 2,5 ml pro baňky T75), abyste zajistili úplné pokrytí buněčné vrstvy. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 10 minut. Po inkubaci spojte a odstředte suspenzi i adheované buňky. Po odstředění opatrně resuspendujte buněčnou peletu a přeneste buněčnou suspenzi do nových baněk obsahujících čerstvé médium.**Seeding density** $3-5 \times 10^5/\text{ml}$ **Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

CMK buňky | 305533

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

CMK buňky | 305533

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálnímu kontrolování.