

CMK-celler | 305533

Generel information

Description

CMK-cellelinjen er en model for human megakaryoblastisk leukæmi, der er etableret ud fra en patient med Downs syndrom, som blev diagnosticeret med akut megakaryoblastisk leukæmi (AMKL). Disse celler er vigtige for forskning i megakaryocytisk differentiering og leukæmi forbundet med trisomi 21. CMK-celler udviser markører, der er typiske for megakaryocytter, såsom glykoproteinerne GPIIb/IIIa og GPIb, som er nøglekomponenter i blodplademembranerne. Tilstedeværelsen af blodpladeperoxidase (PPO)-aktivitet, der er lokaliseret til kernemembranen og det endoplasmatiske retikulum, men ikke til Golgi-apparatet, bekræfter disse cellers megakaryocytiske afstamning. Ultrastrukturel analyse afslører eksistensen af cytoplasmatiske granuler, der ligner α -granuler, samt afgrænsningsmembraner, hvilket yderligere bekræfter deres megakaryocytiske karakter.

CMK-celler er karakteriseret ved en kompleks karyotype, herunder næsten-tetraploidi og en specifik translokation, der(17)t(11;17), som også er til stede i patientens oprindelige leukæmiske celler. Denne genetiske ændring knytter cellelinjen tilbage til sygdomstilstanden hos patienten og udgør dermed en pålidelig model til undersøgelse af AMKL-patogenesen. Derudover kan CMK-cellelinjen reagere på hæmatopoietiske vækstfaktorer som interleukin-3 (IL-3) og granulocyt-makrofag-kolonistimulerende faktor (GM-CSF), som stimulerer proliferation og differentiering til mere modne megakaryocytiske former. Behandling med midler som phorbol ester (TPA) øger expressionen af megakaryocytmarkører og inducerer morfologiske ændringer, herunder cytoplasmatiske segmentering, der ligner dannelsen af blodplader. Disse egenskaber gør CMK til et værdifuldt redskab til at undersøge udviklingen af den megakaryocytiske stamlinje, virkningerne af trisomi 21 på hæmatopoiesen samt mekanismerne bag leukemogenese ved Downs syndrom.

Organism

Menneske

Tissue

Perifert blod

Disease

Myeloid leukæmi forbundet med Downs syndrom

Karakteristika

Age

10 måneder

Gender

Mand

Ethnicity

Japansk

Growth properties

Ophængning

Regulatoriske data

Citation

CMK (Cytion-katalognummer 305533)

CMK-celler | 305533

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0216

Biomolekylære data

Mutational profile Mutation: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), heterozygot; Genfusion: TP53-FXR2

Håndtering

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 20% FBS**Subculturing** Saml de suspenderede celler i et 15 ml rør, og vask forsigtigt de klæbende celler med PBS uden calcium og magnesium (brug 3-5 ml til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber). Påfør Accutase (1-2 ml til T25-kolber, 2,5 ml til T75-kolber) for at sikre fuld dækning af cellelaget. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 10 minutter. Efter inkubationen kombineres og centrifugeres både suspensionen og de vedhæftede celler. Efter centrifugering resuspenderes cellepelleten forsigtigt, og celsuspensionen overføres til nye kolber, der indeholder frisk medium.**Seeding density** $3-5 \times 10^5/\text{ml}$ **Freeze medium** Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmokeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

CMK-celler | 305533

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tør is for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

CMK-celler | 305533

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.