

CMK-Zellen | 305533

Allgemeine Informationen

Description

Die CMK-Zelllinie ist ein Modell für die humane megakaryoblastische Leukämie, das aus einem Patienten mit Down-Syndrom etabliert wurde, bei dem eine akute megakaryoblastische Leukämie (AMKL) diagnostiziert wurde. Diese Zellen sind für die Erforschung der megakaryozytären Differenzierung und der mit der Trisomie 21 assoziierten Leukämie von Bedeutung. CMK-Zellen weisen für Megakaryozyten typische Marker auf, wie beispielsweise die Glykoproteine GPIIb/IIIa und GPIb, die Schlüsselkomponenten der Thrombozytenmembranen sind. Das Vorhandensein von Thrombozytenperoxidase (PPO)-Aktivität, die auf die Kernhülle und das endoplasmatische Retikulum, nicht jedoch auf den Golgi-Apparat beschränkt ist, bestätigt die megakaryozytäre Abstammung dieser Zellen. Die ultrastrukturelle Analyse zeigt das Vorhandensein von zytoplasmatischen Granula, die α -Granula ähneln, sowie Abgrenzungsmembranen, was ihre megakaryozytäre Natur weiter bestätigt.

CMK-Zellen zeichnen sich durch einen komplexen Karyotyp aus, einschließlich einer nahezu Tetraploidie und einer spezifischen Translokation, der(17)t(11;17), die auch in den ursprünglichen Leukämiezellen des Patienten vorhanden ist. Diese genetische Veränderung stellt eine Verbindung zwischen der Zelllinie und dem Krankheitszustand des Patienten her und liefert somit ein zuverlässiges Modell zur Erforschung der AMKL-Pathogenese. Zudem reagiert die CMK-Zelllinie auf hämatopoetische Wachstumsfaktoren wie Interleukin-3 (IL-3) und den Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierenden Faktor (GM-CSF), die die Proliferation und Differenzierung zu reiferen megakaryozytären Formen anregen. Die Behandlung mit Wirkstoffen wie Phorbol ester (TPA) verstärkt die Expression megakaryozytärer Marker und induziert morphologische Veränderungen, darunter eine Zytoplasmasegmentierung, die der Thrombozytenbildung ähnelt. Diese Eigenschaften machen CMK zu einem wertvollen Werkzeug für die Untersuchung der Entwicklung der megakaryozytären Zelllinie, der Auswirkungen der Trisomie 21 auf die Hämatopoese sowie der Mechanismen der Leukämogenese beim Down-Syndrom.

Organism

Menschen

Tissue

Peripheres Blut

Disease

Mit dem Down-Syndrom assoziierte myeloische Leukämie

Merkmale

Age

10 Monate

Gender

Männlich

Ethnicity

Japanisch

Growth properties

Aufhängung

Regulatorische Daten

CMK-Zellen | 305533

Citation CMK (Cytion-Katalognummer 305533)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0216

Biomolekulare Daten

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

Handhabung

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 20% FBS**Subculturing** Die Suspensionszellen in einem 15-ml-Röhrchen sammeln und die anhaftenden Zellen vorsichtig mit PBS ohne Kalzium und Magnesium waschen (3-5 ml für T25-Kolben und 5-10 ml für T75-Kolben verwenden). Accutase auftragen (1-2 ml für T25-Kolben, 2,5 ml für T75-Kolben), um sicherzustellen, dass die Zellschicht vollständig bedeckt ist. Die Zellen 10 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren lassen. Nach der Inkubation sowohl die Suspension als auch die adhären Zellen mischen und zentrifugieren. Nach der Zentrifugation das Zellpellet vorsichtig resuspendieren und die Zellsuspension in neue Flaschen mit frischem Medium überführen.**Seeding density** $3-5 \times 10^5/\text{ml}$ **Freeze medium** Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

CMK-Zellen | 305533

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befeuchtete Atmosphäre.

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

CMK-Zellen | 305533

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.