

Κύτταρα CMK | 305533

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά CMK αποτελεί ένα μοντέλο ανθρώπινης μεγακαρυοβλαστικής λευχαιμίας που δημιουργήθηκε από ασθενή με σύνδρομο Down στον οποίο είχε διαγνωστεί οξεία μεγακαρυοβλαστική λευχαιμία (AMKL). Τα κύτταρα αυτά είναι σημαντικά για την έρευνα σχετικά με τη διαφοροποίηση των μεγακαρυοκυττάρων και τη λευχαιμία που σχετίζεται με την τρισωμία 21. Τα κύτταρα CMK παρουσιάζουν δείκτες χαρακτηριστικούς των μεγακαρυοκυττάρων, όπως οι γλυκοπρωτεΐνες GPIIb/IIIa και GPIb, οι οποίες αποτελούν βασικά συστατικά των μεμβρανών των αιμοπεταλίων. Η παρουσία δραστηριότητας της υπεροξειδάσης των αιμοπεταλίων (PPO), η οποία εντοπίζεται στο πυρηνικό περίβλημα και στο ενδοπλασματικό δίκτυο αλλά όχι στον Golgi, επιβεβαιώνει τη μεγακαρυοκυτταρική καταγωγή αυτών των κυττάρων. Η υπερδομική ανάλυση αποκαλύπτει την ύπαρξη κυτταροπλασματικών κόκκων που μοιάζουν με α-κόκκους και μεμβράνες οριοθέτησης, επιβεβαιώνοντας περαιτέρω τη μεγακαρυοκυτταρική τους φύση.

Τα κύτταρα CMK χαρακτηρίζονται από έναν σύνθετο καρυότυπο, που περιλαμβάνει σχεδόν τετραπλοειδία και μια συγκεκριμένη μετατόπιση, der(17)t(11;17), η οποία υπάρχει επίσης στα αρχικά λευχαιμικά κύτταρα του ασθενούς. Αυτή η γενετική μεταβολή συνδέει τη κυτταρική σειρά με την κατάσταση της νόσου στον ασθενή, παρέχοντας ένα αξιόπιστο μοντέλο για τη μελέτη της παθογένειας της AMKL. Επιπλέον, η κυτταρική σειρά CMK μπορεί να ανταποκριθεί σε αιματοποιητικούς αυξητικούς παράγοντες όπως η ιντερλευκίνη-3 (IL-3) και ο παράγοντας διέγερσης αποικιών κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων (GM-CSF), οι οποίοι διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση σε πιο ώριμες μεγακαρυοκυτταρικές μορφές. Η θεραπεία με παράγοντες όπως ο φορβολικός εστέρας (TPA) ενισχύει την έκφραση των δεικτών των μεγακαρυοκυττάρων και προκαλεί μορφολογικές αλλαγές, συμπεριλαμβανομένης της κυτταροπλασματικής τμηματοποίησης που μοιάζει με τον σχηματισμό αιμοπεταλίων. Αυτά τα χαρακτηριστικά καθιστούν την CMK ένα πολύτιμο εργαλείο για τη μελέτη της ανάπτυξης της μεγακαρυοκυτταρικής σειράς, των επιδράσεων της τρισωμίας 21 στην αιματοποίηση και των μηχανισμών της λευχαιμογένεσης στο σύνδρομο Down.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Περιφερικό αίμα

Disease

Μυελοειδής λευχαιμία που σχετίζεται με το σύνδρομο Down

Χαρακτηριστικά

Age

10 μήνες

Gender

Άντρας

Ethnicity

Ιαπωνικά

Growth properties

Αναστολή

Ρυθμιστικά δεδομένα

Κύτταρα CMK | 305533

Citation CMK (αριθμός καταλόγου Cytion 305533)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0216

Βιομοριακά δεδομένα

Mutational profile Μετάλλαξη: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), ετερόζυγη· Γονιδιακή σύντηξη: TP53-FXR2

Χειρισμός

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 20% FBS**Subculturing** Συγκεντρώστε τα εναιωρήματα σε ένα σωληνάριο των 15 ml και πλύνετε απαλά τα προσκολλημένα κύτταρα με PBS χωρίς ασβέστιο και μαγνήσιο (χρησιμοποιήστε 3-5 ml για φιάλες T25 και 5-10 ml για φιάλες T75). Εφαρμόστε Accutase (1-2 ml για φιάλες T25, 2,5 ml για φιάλες T75) εξασφαλίζοντας πλήρη κάλυψη της κυτταρικής στιβάδας. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά. Μετά την επώαση, συνδυάστε και φυγοκεντρίστε τόσο το εναιώρημα όσο και τα προσκολλημένα κύτταρα. Μετά τη φυγοκέντρηση, ανασυγκεντρώστε προσεκτικά το κυτταρικό σφαιρίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα κυττάρων σε νέες φιάλες που περιέχουν φρέσκο μέσο.**Seeding density** $3-5 \times 10^5$ /ml**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα CMK | 305533**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Shipping
Conditions**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Storage
Conditions**

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Κύτταρα CMK | 305533

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.