

Células CMK | 305533

Información general

Description

La línea celular CMK es un modelo de leucemia megacarioblástica humana establecido a partir de un paciente con síndrome de Down al que se le diagnosticó leucemia megacarioblástica aguda (LMCA). Estas células son importantes para la investigación sobre la diferenciación megacariocítica y la leucemia asociada a la trisomía 21. Las células CMK presentan marcadores típicos de los megacariocitos, como las glicoproteínas GPIIb/IIIa y GPIb, que son componentes clave de las membranas plaquetarias. La presencia de actividad de la peroxidasa plaquetaria (PPO), localizada en la envoltura nuclear y el retículo endoplásmico, pero no en el aparato de Golgi, confirma el linaje megacariocítico de estas células. El análisis ultraestructural revela la existencia de gránulos citoplasmáticos similares a los gránulos α y de membranas de demarcación, lo que corrobora aún más su naturaleza megacariocítica.

Las células CMK se caracterizan por un cariotipo complejo, que incluye una casi tetraploidía y una translocación específica, der(17)t(11;17), también presente en las células leucémicas originales del paciente. Esta alteración genética vincula la línea celular con el estado de la enfermedad del paciente, lo que proporciona un modelo fiable para estudiar la patogénesis de la LMA-CMK. Además, la línea celular CMK puede responder a factores de crecimiento hematopoyéticos como la interleucina-3 (IL-3) y el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), que estimulan la proliferación y la diferenciación hacia formas megacariocíticas más maduras. El tratamiento con agentes como el éster de forbol (TPA) potencia la expresión de marcadores megacariocíticos e induce cambios morfológicos, incluida la segmentación citoplasmática similar a la formación de plaquetas. Estas características convierten a la CMK en una herramienta valiosa para investigar el desarrollo del linaje megacariocítico, los efectos de la trisomía 21 sobre la hematopoyesis y los mecanismos de la leucemogénesis en el síndrome de Down.

Organism

Humano

Tissue

Sangre periférica

Disease

Leucemia mieloide asociada al síndrome de Down

Características

Age

10 meses

Gender

Hombre

Ethnicity

Japonés

Growth properties

Suspensión

Datos reglamentarios

Células CMK | 305533

Citation	CMK (número de catálogo de Cytion 305533)
-----------------	---

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_0216
-----------------------------	-----------

Datos biomoleculares

Mutational profile	Mutación: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), heterocigótica; Fusión génica: TP53-FXR2
---------------------------	---

Manejo de

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)
-----------------------	---

Supplements	Complementar el medio con un 20% de FBS
--------------------	---

Subculturing	Reunir las células en suspensión en un tubo de 15 ml y lavar suavemente las células adherentes con PBS sin calcio ni magnesio (utilizar 3-5 ml para matraces T25 y 5-10 ml para matraces T75). Aplicar Accutase (1-2 ml para matraces T25, 2,5 ml para matraces T75) asegurando la cobertura completa de la capa celular. Dejar incubar las células a temperatura ambiente durante 10 minutos. Tras la incubación, combinar y centrifugar tanto la suspensión como las células adherentes. Tras la centrifugación, resuspender cuidadosamente el sedimento celular y transferir la suspensión celular a nuevos matraces que contengan medio fresco.
---------------------	---

Seeding density	$3-5 \times 10^5/\text{ml}$
------------------------	-----------------------------

Freeze medium	Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés criointducido.
----------------------	--

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

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , atmósfera humidificada.

**Shipping
Conditions**

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

**Storage
Conditions**

Para la conservación a largo plazo, colocar los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Células CMK | 305533

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.