

CMK-rakud | 305533

Üldine teave

Description

CMK-rakuliin on inimese megakarioblastilise leukeemia mudel, mis on loodud Downi sündroomiga patsiendilt, kellel diagnoositi äge megakarioblastiline leukeemia (AMKL). Need rakud on olulised megakariootsüütide diferentseerumise ja trisoomiaga 21 seotud leukeemia uurimisel. CMK-rakkudel esinevad megakariootsüütidele iseloomulikud markerid, nagu glükoproteiinid GPIIb/IIIa ja GPIb, mis on trombotsüütide membraanide võtmekomponendid. Trombotsüütide peroksidaasi (PPO) aktiivsuse esinemine, mis on lokaliseeritud tuumamembraanile ja endoplasmaatilisele retikulumile, kuid mitte Golgi aparaadile, kinnitab nende rakkude megakariootsüütilist päritolu. Ultrastruktuuriline analüüs näitab α -graanuleid meenutavate tsütoplasmaatiliste graanulite ja eraldusmembraanide olemasolu, mis kinnitab veelgi nende megakariootset olemust.

CMK-rakkudele on iseloomulik keerukas kariotüüp, sealhulgas peaaegu tetraploidsus ja spetsiifiline translokatsioon der(17)t(11;17), mis esineb ka patsiendi algsetes leukeemilistes rakkudes. See geneetiline muutus seob rakuliini patsiendi haigusseisundiga, pakkudes usaldusväärset mudelit AMKL-i patogeneesi uurimiseks. Lisaks suudab CMK-rakuliin reageerida hematopoeetiliste kasvufaktoritele, nagu interleukiin-3 (IL-3) ja granülotsüütide-makrofaagide kolooniat stimuleeriv faktor (GM-CSF), mis stimuleerivad proliferatsiooni ja diferentseerumist küpsemateks megakariootsüütideks vormideks. Ravi selliste ravimitega nagu forbolester (TPA) suurendab megakariootsüütide markerite ekspressiooni ja põhjustab morfoloogilisi muutusi, sealhulgas tsütoplasma segmentatsiooni, mis sarnaneb trombotsüütide moodustumisega. Need omadused muudavad CMK väärtuslikuks vahendiks megakariootsete rakuliinide arengu, trisoomia 21 mõju hematopoesile ning leukeemogeneesi mehhanismide uurimisel Downi sündroomi puhul.

Organism

Inimene

Tissue

Perifeerne veri

Disease

Downi sündroomiga seotud müeloidne leukeemia

Omadused

Age

10 kuud

Gender

Mees

Ethnicity

Jaapani

Growth properties

Peatamine

Regulatiivsed andmed

Citation

CMK (Cytioni katalooginumbr 305533)

CMK-rakud | 305533

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0216

Biomolekulaarsed andmed

Mutational profile Mutatsioon: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), heterosügootne; geenifusioon: TP53-FXR2

Töötlemine

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

Supplements Täiendada keskkonda 20% FBS-ga

Subculturing Koguge suspensioonirakud 15 ml tuubi ja peske kleepunud rakud ettevaatlikult PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium (kasutage 3-5 ml T25 kolbide puhul ja 5-10 ml T75 kolbide puhul). Kandke Accutase'i (1-2 ml T25 kolvidesse, 2,5 ml T75 kolvidesse), tagades rakukihi täieliku katvuse. Laske rakkudel 10 minutit toatemperatuuril inkubeerida. Pärast inkubeerimist ühendage ja tsentrifuugige nii suspensioon kui ka adherentsed rakud. Pärast tsentrifuugimist resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult ja kandke rakususpensioon uutesse kolvidesse, mis sisaldavad värsket söötmeainet.

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

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbr 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

CMK-rakud | 305533

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

CMK-rakud | 305533

Sterility

Mükoplasma kontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.