

CMK-solut | 305533

Yleisiä tietoja

Description

CMK-solulinja on ihmisen megakaryoblastisen leukemian malli, joka on kehitetty Downin oireyhtymää sairastavalta potilaalta, jolla oli diagnosoitu akuutti megakaryoblastinen leukemia (AMKL). Nämä solut ovat tärkeitä megakaryosyyttien erilaistumista ja trisomia 21:een liittyvää leukemiasairautta koskevassa tutkimuksessa. CMK-soluissa esiintyy megakaryosyyteille tyypillisiä markkereita, kuten glykoproteiineja GPIIb/IIIa ja GPIb, jotka ovat verihiutaleiden kalvojen avainkomponentteja. Verihiutaleiden peroksidaasiaktiivisuus (PPO), joka on paikallistunut tumakoteloon ja endoplasmakalvostoon mutta ei Golgi-laitteeseen, vahvistaa näiden solujen megakaryosyyttisen alkuperän. Ultrastruktuurianalyysi paljastaa α -rakeita muistuttavien sytoplasmisten rakeiden ja rajakalvojen olemassaolon, mikä vahvistaa entisestään niiden megakaryosyyttistä luonnetta.

CMK-soluille on ominaista monimutkainen karyotyyppi, johon kuuluu lähes tetraploidia ja spesifinen translokaatio der(17)t(11;17), joka esiintyy myös potilaan alkuperäisissä leukemiasoluissa. Tämä geneettinen muutos yhdistää solulinjan potilaan sairaustilaan ja tarjoaa luotettavan mallin AMKL:n patogeneesin tutkimiseen. Lisäksi CMK-solulinja voi reagoida hematopoieettisiin kasvutekijöihin, kuten interleukiini-3:een (IL-3) ja granulositytti-makrofagi-koloniastimuloivaan tekijään (GM-CSF), jotka stimuloivat solujen lisääntymistä ja erilaistumista kypsemiksi megakaryosyyttimuodoiksi. Hoito forbolesterin (TPA) kaltaisilla aineilla tehostaa megakaryosyyttisten merkkiaineiden ilmentymistä ja aiheuttaa morfologisia muutoksia, mukaan lukien verihiutaleiden muodostumista muistuttavan sytoplasmien segmentoitumisen. Nämä ominaisuudet tekevät CMK:sta arvokkaan työkalun megakaryosyyttisen solulinjan kehityksen, trisomian 21 vaikutusten hematopoieesiin sekä leukemogeneesin mekanismien tutkimiseen Downin oireyhtymässä.

Organism

Ihminen

Tissue

Perifeerinen veri

Disease

Downin oireyhtymään liittyvä myeloinen leukemia

Ominaisuudet

Age

10 kuukautta

Gender

Mies

Ethnicity

Japanilainen

Growth properties

Jousitus

Säätelytiedot

Citation

CMK (Cytionin tuotenumero 305533)

CMK-solut | 305533

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0216

Biomolekyylitiedot

Mutational profile	Mutaatio: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), heterotsygootti; Geenifuusio: TP53-FXR2
--------------------	--

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
----------------	--

Supplements	Täydennetään elatusainetta 20 %:lla FBS:llä
-------------	---

Subculturing	Kerää suspensiosolut 15 ml:n putkeen ja pese kiinni olevat solut varovasti PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia (3-5 ml T25-pulloissa ja 5-10 ml T75-pulloissa). Levitä Accutasea (1-2 ml T25-pulloihin, 2,5 ml T75-pulloihin) varmistaen, että solukerros peittyy kokonaan. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 10 minuuttia. Inkuboinnin jälkeen yhdistetään ja sentrifugoidaan sekä suspensio että adherentit solut. Sentrifugoinnin jälkeen solupelletti suspendoidaan varovasti uudelleen ja siirretään solususpensio uusiin pulloihin, jotka sisältävät tuoretta väliaineita.
--------------	--

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

Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.
---------------	---

CMK-solut | 305533

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

CMK-solut | 305533

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.