

Cellules CMK | 305533

Informations générales

Description

La lignée cellulaire CMK est un modèle de leucémie mégacaryoblastique humaine issu d'un patient atteint du syndrome de Down chez qui une leucémie mégacaryoblastique aiguë (LMMA) a été diagnostiquée. Ces cellules présentent un intérêt majeur pour la recherche sur la différenciation mégacaryocytaire et la leucémie associée à la trisomie 21. Les cellules CMK expriment des marqueurs typiques des mégacaryocytes, tels que les glycoprotéines GPIIb/IIIa et GPIb, qui sont des composants clés des membranes plaquettaires. La présence d'une activité de la peroxydase plaquettaire (PPO), localisée au niveau de l'enveloppe nucléaire et du réticulum endoplasmique, mais pas au niveau de l'appareil de Golgi, confirme la lignée mégacaryocytaire de ces cellules. L'analyse ultrastructurale révèle l'existence de granules cytoplasmiques ressemblant à des granules α et de membranes de démarcation, ce qui confirme encore davantage leur nature mégacaryocytaire.

Les cellules CMK se caractérisent par un caryotype complexe, comprenant une quasi-tétraploïdie et une translocation spécifique, der(17)t(11;17), également présente dans les cellules leucémiques d'origine du patient. Cette altération génétique relie la lignée cellulaire à l'état pathologique du patient, offrant ainsi un modèle fiable pour l'étude de la pathogenèse de la LMA. De plus, la lignée cellulaire CMK peut répondre à des facteurs de croissance hématopoïétiques tels que l'interleukine-3 (IL-3) et le facteur de stimulation des colonies de granulocytes et de macrophages (GM-CSF), qui stimulent la prolifération et la différenciation en formes mégacaryocytaires plus matures. Le traitement par des agents tels que l'ester de phorbol (TPA) renforce l'expression des marqueurs mégacaryocytaires et induit des changements morphologiques, notamment une segmentation cytoplasmique ressemblant à la formation des plaquettes. Ces caractéristiques font de la lignée CMK un outil précieux pour étudier le développement de la lignée mégacaryocytaire, les effets de la trisomie 21 sur l'hématopoïèse et les mécanismes de la leucémogénèse dans le syndrome de Down.

Organism

Humain

Tissue

Sang périphérique

Disease

Leucémie myéloïde associée au syndrome de Down

Caractéristiques

Age

10 mois

Gender

Homme

Ethnicity

Japonais

Growth properties

Suspension

Données réglementaires

Cellules CMK | 305533

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

Données biomoléculaires

Mutational profile Mutation : TP53, p.Asp49His (c.145G>C), hétérozygote ; fusion génique : TP53-FXR2

Manipulation

Culture Medium DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO₃, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)**Supplements** Compléter le milieu avec 20% de FBS**Subculturing** Rassembler les cellules en suspension dans un tube de 15 ml et laver délicatement les cellules adhérentes avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium (utiliser 3-5 ml pour les flacons T25 et 5-10 ml pour les flacons T75). Appliquer Accutase (1-2 ml pour les flacons T25, 2,5 ml pour les flacons T75) en veillant à couvrir entièrement la couche cellulaire. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 10 minutes. Après l'incubation, combiner et centrifuger la suspension et les cellules adhérentes. Après centrifugation, remettre soigneusement en suspension le culot cellulaire et transférer la suspension cellulaire dans de nouveaux flacons contenant du milieu frais.**Seeding density** 3 à 5 × 10⁵/ml**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Cellules CMK | 305533

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Cellules CMK | 305533

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.