

CMK-sejtek | 305533

Általános információk

Description

A CMK sejtvonal egy humán megakarioblasztos leukémia-modell, amelyet egy akut megakarioblasztos leukémiával (AMKL) diagnosztizált Down-szindrómás betegből állítottak elő. Ezek a sejtek jelentős szerepet játszanak a megakariocita-differenciálódás és a 21-es triszómiával összefüggő leukémia kutatásában. A CMK-sejtek a megakariocitákra jellemző markereket mutatnak, például a GPIIb/IIIa és GPIb glikoproteinokat, amelyek a vérlemezkék membránjainak kulcsfontosságú alkotóelemei. A vérlemezke-peroxidáz (PPO) aktivitás jelenléte, amely a sejtmagburkolatra és az endoplazmatikus retikulumra korlátozódik, de nem található meg a Golgi-apparátusban, megerősíti e sejtek megakariocita eredetét. Az ultrastrukturális elemzés feltárja az α -granulátumokra emlékeztető citoplazmatikus granulátumok és a demarkációs membránok jelenlétét, ami tovább erősíti megakariocita jellegüket.

A CMK-sejteket komplex kariótípus jellemzi, beleértve a közel tetraploidit és egy specifikus transzlokációt, a der(17)t(11;17)-et, amely a beteg eredeti leukémiás sejteiben is jelen van. Ez a genetikai eltérés összeköti a sejtvonalat a beteg betegségi állapotával, így megbízható modellt biztosít az AMKL patogenezisének tanulmányozásához. Ezen felül a CMK sejtvonal reagál a vérképző növekedési faktorokra, mint például az interleukin-3 (IL-3) és a granulocita-makrofág kolóniát stimuláló faktor (GM-CSF), amelyek serkentik a sejtek szaporodását és az érettebb megakariocita formákká történő differenciálódást. A forbol-észter (TPA) és hasonló szerekkel történő kezelés fokozza a megakariocita markerek expresszióját, és morfológiai változásokat vált ki, beleértve a vérlemezkék képződését idéző citoplazmatikus szegmentációt is. Ezek a tulajdonságok a CMK-t értékes eszközzé teszik a megakariocita vonal fejlődésének, a 21-es triszómia hematopoézisre gyakorolt hatásainak, valamint a Down-szindrómában kialakuló leukémia kialakulásának mechanizmusainak vizsgálatához.

Organism

Emberi

Tissue

Perifériás vér

Disease

A Down-szindrómával összefüggő mieloid leukémia

Jellemzők

Age

10 hónap

Gender

Férfi

Ethnicity

Japán

Growth properties

Felfüggesztés

Szabályozási adatok

CMK-sejtek | 305533

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

Biomolekuláris adatok

Mutational profile Mutáció: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), heterozigóta; Génfúzió: TP53-FXR2

A kezelése

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)**Supplements** A táptalajt 20% FBS-szel egészítsük ki**Subculturing** Gyűjtse össze a szuszpenziós sejteket egy 15 ml-es csőbe, és óvatosan mossa át a megtapadt sejteket kalciumot és magnéziumot nem tartalmazó PBS-szel (T25 lombik esetén 3-5 ml-t, T75 lombik esetén 5-10 ml-t használjon). Vigyen fel Accutase-t (1-2 ml-t T25 lombikokhoz, 2,5 ml-t T75 lombikokhoz), biztosítva a sejtréteg teljes lefedettségét. Hagyjuk a sejteket 10 percig szobahőmérsékleten inkubálni. Az inkubációt követően egyesítsük és centrifugáljuk a szuszpenziót és az adhezív sejteket. A centrifugálás után óvatosan reszuszpendáljuk a sejtpelletet, és a sejtsuszpenziót helyezzük át friss tápfolyadékot tartalmazó új lombikokba.**Seeding density** $3-5 \times 10^5$ /ml**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

CMK-sejtek | 305533

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuspenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Storage
Conditions**

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150°C és -196°C közötti hőmérsékleten. A -80°C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

CMK-sejtek | 305533

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.