

Sel CMK | 305533

Informasi umum

Description

Garis sel CMK merupakan model leukemia megakaryoblastik manusia yang dikembangkan dari seorang pasien sindrom Down yang didiagnosis menderita leukemia megakaryoblastik akut (AMKL). Sel-sel ini penting untuk penelitian mengenai diferensiasi megakariositik dan leukemia yang terkait dengan trisomi 21. Sel CMK menunjukkan penanda khas megakariosit, seperti glikoprotein GPIIb/IIIa dan GPIb, yang merupakan komponen kunci membran trombosit. Adanya aktivitas peroksidase trombosit (PPO), yang terlokalisasi pada selubung inti dan retikulum endoplasma tetapi tidak pada aparatus Golgi, menegaskan garis keturunan megakariositik sel-sel ini. Analisis ultrastruktural mengungkapkan adanya butiran sitoplasma yang menyerupai butiran α dan membran demarkasi, yang semakin menguatkan sifat megakariositik sel-sel tersebut.

Sel-sel CMK dicirikan oleh kariotipe yang kompleks, termasuk hampir tetraploidi dan translokasi spesifik, der(17)t(11;17), yang juga terdapat pada sel-sel leukemia asli pasien. Alterasi genetik ini menghubungkan garis sel tersebut kembali ke kondisi penyakit pada pasien, sehingga menyediakan model yang andal untuk mempelajari patogenesis AMKL. Selain itu, garis sel CMK dapat merespons faktor pertumbuhan hematopoietik seperti interleukin-3 (IL-3) dan faktor stimulasi koloni granulosit-makrofag (GM-CSF), yang merangsang proliferasi dan diferensiasi menjadi bentuk megakariositik yang lebih matang. Pengobatan dengan agen seperti ester phorbol (TPA) meningkatkan ekspresi penanda megakariositik dan memicu perubahan morfologis, termasuk segmentasi sitoplasma yang menyerupai pembentukan trombosit. Ciri-ciri ini menjadikan CMK alat yang berharga untuk menyelidiki perkembangan garis keturunan megakariositik, efek trisomi 21 pada hematopoiesis, serta mekanisme leukemogenesis pada sindrom Down.

Organism

Manusia

Tissue

Darah tepi

Disease

Leukemia mieloid yang terkait dengan sindrom Down

Karakteristik

Age

10 bulan

Gender

Laki-laki

Ethnicity

Bahasa Jepang

Growth properties

Penangguhan

Data Peraturan

Citation

CMK (nomor katalog Cytion 305533)

Sel CMK | 305533

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0216

Data Biomolekuler

Mutational profile	Mutasi: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), heterozigot; Fusi gen: TP53-FXR2
--------------------	---

Penanganan

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)
----------------	--

Supplements	Tambahkan media dengan 20% FBS
-------------	--------------------------------

Subculturing	Kumpulkan sel suspensi dalam tabung 15 ml dan cuci sel yang melekat dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium (gunakan 3-5 ml untuk labu T25 dan 5-10 ml untuk labu T75). Oleskan Accutase (1-2 ml untuk labu T25, 2,5 ml untuk labu T75) untuk memastikan cakupan penuh lapisan sel. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 10 menit. Setelah inkubasi, gabungkan dan sentrifugasi suspensi dan sel yang melekat. Setelah sentrifugasi, resuspensi pelet sel dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam labu baru yang berisi medium segar.
--------------	--

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

Freeze medium	Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.
---------------	---

Sel CMK | 305533

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $300 \times g$ selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196°C . Penyimpanan pada suhu -80°C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Pengendalian Mutu & Analisis Molekuler

Sel CMK | 305533

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.