

CMK ląstelės | 305533

Bendra informacija

Description

CMK ląstelių linija – tai žmogaus megakarioblastinės leukemijos modelis, sukurtas remiantis Dauno sindromą turinčio paciento, kuriam buvo diagnozuota ūminė megakarioblastinė leukemija (AMKL), ląstelėmis. Šios ląstelės yra svarbios atliekant megakariocitų diferenciacijos ir su 21 trisomija susijusios leukemijos tyrimus. CMK ląstelėse aptinkami megakariocitams būdingi žymenys, pavyzdžiui, glikoproteidai GPIIb/IIIa ir GPIb, kurie yra pagrindiniai trombocitų membranų komponentai. Trombocitų peroksidazės (PPO) aktyvumas, lokalizuotas branduolio apvalkale ir endoplazminėje tinklelyje, bet ne Golgi aparate, patvirtina šių ląstelių megakariocitinę kilmę. Ultrastruktūrinė analizė atskleidžia citoplazminių granulių, panašių į α -granules, ir demarkacinių membranų buvimą, dar labiau patvirtinantį jų megakariocitinę prigimtį.

CMK ląstelėms būdingas sudėtingas kariotipas, įskaitant beveik tetraploidiją ir specifinę translokaciją der(17)t(11;17), kuri taip pat aptinkama ir paciento pirminėse leukemijos ląstelėse. Šis genetinis pokytis susieja ląstelių liniją su paciento ligos būkle, suteikdamas patikimą modelį AMKL patogenezės tyrimams. Be to, CMK ląstelių linija gali reaguoti į kraujodaros augimo veiksnius, pavyzdžiui, interleukiną-3 (IL-3) ir granuliocitų-makrofagų kolonijas stimuliuojantį veiksnių (GM-CSF), kurie skatina proliferaciją ir diferenciaciją į brandesnes megakariocitines formas. Gydymas tokiais preparatais kaip forbolo esteris (TPA) sustiprina megakariocitinių žymenų ekspresiją ir sukelia morfologinius pokyčius, įskaitant citoplazmos segmentaciją, primenančią trombocitų susidarymą. Dėl šių savybių CMK yra vertinga priemonė, skirta tirti megakariocitų linijos vystymąsi, 21 trisomijos poveikį kraujodarai ir leukemogenezės mechanizmus Dauno sindromo atveju.

Organism

Žmogus

Tissue

Periferinis kraujas

Disease

Su Dauno sindromu susijusi mieloidinė leukemija

Charakteristikos

Age

10 mėnesių

Gender

Vyras

Ethnicity

Japonų

Growth properties

Pakaba

Reguliavimo duomenys

Citation

CMK (Cytion katalogo numeris 305533)

Biosafety level

1

CMK ląstelės | 305533

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0216

Biomolekuliniai duomenys

Mutational profile Mutacija: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), heterozigotinė; Genų susijungimas: TP53-FXR2

Tvarkymas

Culture Medium DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)**Supplements** Papildykite terpę 20 % FBS**Subculturing** Surinkite ląstelių suspensiją į 15 ml mėgintuvėlį ir švelniai nuplaukite prilipusias ląsteles PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio (naudokite 3-5 ml T25 kolboms ir 5-10 ml T75 kolboms). Užtepkite "Accutase" (1-2 ml T25 kolboms, 2,5 ml T75 kolboms), kad visiškai padengtumėte ląstelių sluoksnį. Leiskite ląstelėms 10 minučių inkubuotis kambario temperatūroje. Po inkubacijos sumaišykite ir centrifuguokite suspensiją ir prilipusias ląsteles. Po centrifugavimo atsargiai resuspenduokite ląstelių granules ir perkelti ląstelių suspensiją į naujas kolbas su šviežia terpe.**Seeding density** $3-5 \times 10^5/\text{ml}$ **Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

CMK ląstelės | 305533

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

CMK ląstelės | 305533

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.