

CMK šūnas | 305533

Vispārīga informācija

Description

CMK šūnu līnija ir cilvēka megakarioblastiskās leukēmijas modelis, kas izveidots no pacienta ar Dauna sindromu, kuram diagnosticēta akūta megakarioblastiskā leukēmija (AMKL). Šīs šūnas ir nozīmīgas pētījumos par megakariocītu diferenciāciju un leukēmiju, kas saistīta ar 21. hromosomas trisomiju. CMK šūnās ir novērojami megakariocītiem raksturīgi marķieri, piemēram, glikoproteīni GPIIb/IIIa un GPIb, kas ir trombocītu membrānu galvenās sastāvdaļas. Trombocītu peroksidāzes (PPO) aktivitāte, kas lokalizēta kodola apvalkā un endoplazmatiskajā tīklā, bet ne Golgi aparātā, apstiprina šo šūnu megakariocītisko izcelsmi. Ultrastrukturālā analīze atklāj citoplazmatisko granulu, kas līdzinās α -granulām, un demarkācijas membrānu klātbūtni, tādējādi vēl vairāk apstiprinot to megakariocītisko raksturu.

CMK šūnām raksturīgs sarežģīts kariotips, tostarp gandrīz tetraploidija un specifiska translokācija der(17)t(11;17), kas sastopama arī pacienta sākotnējās leukēmijas šūnās. Šī ģenētiskā izmaiņa saista šūnu līniju ar pacienta slimības stāvokli, nodrošinot uzticamu modeli AMKL patogēnēzes izpētei. Turklāt CMK šūnu līnija var reaģēt uz hematopoētiskajiem augšanas faktoriem, piemēram, interleikīnu-3 (IL-3) un granulocītu-makrofāgu koloniju stimulējošo faktoru (GM-CSF), kas stimulē proliferāciju un diferenciāciju uz nobriedušākām megakariocītiskām formām. Ārstēšana ar tādiem līdzekļiem kā forbolesteris (TPA) pastiprina megakariocītu marķieru ekspresiju un izraisa morfoloģiskas izmaiņas, tostarp citoplazmas segmentāciju, kas atgādina trombocītu veidošanos. Šīs īpašības padara CMK par vērtīgu rīku megakariocītu cilts attīstības izpētei, 21. hromosomas trisomijas ietekmes uz asinsveidošanos izpētei, kā arī leukēmogēnēzes mehānismu izpētei Dauna sindromā.

Organism

Cilvēks

Tissue

Perifērās asinis

Disease

Ar Dauna sindromu saistīta mieloīdā leukēmija

Raksturojums

Age

10 mēneši

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Japāņu

Growth properties

Apturēšana

Normatīvie dati

Citation

CMK (Cytion kataloga numurs 305533)

CMK šūnas | 305533

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0216

Biomolekulārie dati

Mutational profile	Mutācija: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), heterozigota; Gēnu fūzija: TP53-FXR2
--------------------	---

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
----------------	---

Supplements	Papildināt barotni ar 20% FBS
-------------	-------------------------------

Subculturing	Savāc suspensijas šūnas 15 ml mēģenē un saudzīgi izmazgā pielipušās šūnas ar PBS bez kalcija un magnija (T25 kolbām izmanto 3-5 ml, bet T75 kolbām - 5-10 ml). Uzklājiet Accutase (1-2 ml T25 kolbām, 2,5 ml T75 kolbām), nodrošinot pilnīgu šūnu slāņa pārklājumu. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 10 minūtes. Pēc inkubācijas apvienot un centrifugēt gan suspensiju, gan pielipušās šūnas. Pēc centrifugēšanas uzmanīgi resuspendēt šūnu granulas un pārvietot šūnu suspensiju jaunās kolbās ar svaigu barotni.
--------------	---

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

Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
---------------	---

CMK šūnas | 305533

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

CMK šūnas | 305533

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.