

CMK-cellen | 305533

Algemene informatie

Description

De CMK-cellijn is een model voor humane megakaryoblastische leukemie, dat is opgezet op basis van een patiënt met het syndroom van Down bij wie acute megakaryoblastische leukemie (AMKL) was vastgesteld. Deze cellen zijn van groot belang voor onderzoek naar megakaryocytaire differentiatie en leukemie geassocieerd met trisomie 21. CMK-cellen vertonen kenmerken die typisch zijn voor megakaryocyten, zoals de glycoproteïnen GPIIb/IIIa en GPIb, die essentiële componenten zijn van bloedplaatjesmembranen. De aanwezigheid van bloedplaatjesperoxidase (PPO)-activiteit, gelokaliseerd in de kernmembraan en het endoplasmatisch reticulum maar niet in het Golgi-apparaat, bevestigt de megakaryocytaire afstamming van deze cellen. Ultrastructurele analyse toont het bestaan aan van cytoplasmatische granulen die lijken op α -granulen en afbakeningsmembranen, wat hun megakaryocytaire aard verder bevestigt.

CMK-cellen worden gekenmerkt door een complex karyotype, waaronder bijna-tetraploidie en een specifieke translocatie, der(17)t(11;17), die ook aanwezig is in de oorspronkelijke leukemiecellen van de patiënt. Deze genetische verandering koppelt de cellijn terug aan de ziekte-toestand bij de patiënt en biedt daarmee een betrouwbaar model voor het bestuderen van de pathogenese van AMKL. Bovendien kan de CMK-cellijn reageren op hematopoëtische groeifactoren zoals interleukine-3 (IL-3) en granulocyt-macrophage-coloniestimulerende factor (GM-CSF), die de proliferatie en differentiatie naar meer volwassen megakaryocytaire vormen stimuleren. Behandeling met middelen zoals forbolester (TPA) versterkt de expressie van megakaryocytaire markers en induceert morfologische veranderingen, waaronder cytoplasmatische segmentatie die lijkt op de vorming van bloedplaatjes. Deze kenmerken maken CMK tot een waardevol hulpmiddel voor het onderzoek naar de ontwikkeling van de megakaryocytaire lijn, de effecten van trisomie 21 op de hematopoëse en de mechanismen van leukemogenese bij het syndroom van Down.

Organism

Mens

Tissue

Perifeer bloed

Disease

Myeloïde leukemie in verband met het syndroom van Down

Kenmerken

Age

10 maanden

Gender

Mannelijk

Ethnicity

Japans

Growth properties

Ophanging

Regelgevende gegevens

CMK-cellen | 305533

Citation	CMK (Cytion-catalogusnummer 305533)
-----------------	-------------------------------------

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_0216
-----------------------------	-----------

Biomoleculaire gegevens

Mutational profile	Mutatie: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), heterozygoot; Genfusie: TP53-FXR2
---------------------------	---

Omgaan met

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)
-----------------------	---

Supplements	Vul het medium aan met 20% FBS
--------------------	--------------------------------

Subculturing	Verzamel de suspensiecellen in een buis van 15 ml en was de aanhangende cellen voorzichtig met PBS zonder calcium en magnesium (gebruik 3-5 ml voor T25-flesjes en 5-10 ml voor T75-flesjes). Breng Accutase aan (1-2 ml voor T25-flesjes, 2,5 ml voor T75-flesjes) en zorg dat de cellaag volledig bedekt wordt. Laat de cellen 10 minuten bij kamertemperatuur incuberen. Na de incubatie zowel de suspensie als de aanhangende cellen combineren en centrifugeren. Na het centrifugeren de celpellet voorzichtig resuspenderen en de celsuspensie overbrengen in nieuwe kolven met vers medium.
---------------------	--

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

Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.
----------------------	--

CMK-cellen | 305533

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150°C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37°C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78°C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196°C . Opslag bij -80°C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

CMK-cellen | 305533

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.