

CMK-celler | 305533

Generell informasjon

Description

CMK-cellelinjen er en modell for human megakaryoblastisk leukemi, etablert fra en pasient med Downs syndrom som fikk diagnosen akutt megakaryoblastisk leukemi (AMKL). Disse cellene er viktige for forskning på megakaryocytisk differensiering og leukemi assosiert med trisomi 21. CMK-celler viser markører som er typiske for megakaryocytter, slik som glykoproteinene GPIIb/IIIa og GPIb, som er nøkkelkomponenter i blodplate-membranene. Tilstedeværelsen av blodplateperoksidase (PPO)-aktivitet, lokalisert til kjernemembranen og det endoplasmatiske retikulumet, men ikke til Golgi-apparatet, bekrefter den megakaryocytiske avstamningen til disse cellene. Ultrastrukturell analyse avslører eksistensen av cytoplasmatiske granuler som ligner α -granuler og avgrensningsmembraner, noe som ytterligere bekrefter deres megakaryocytiske natur.

CMK-celler er preget av en kompleks karyotype, inkludert nær-tetraploidi og en spesifikk translokasjon, der(17)t(11;17), som også finnes i pasientens opprinnelige leukemiceller. Denne genetiske endringen knytter cellelinjen tilbake til sykdomstilstanden hos pasienten, og gir en pålitelig modell for å studere AMKL-patogenesen. I tillegg kan CMK-cellelinjen reagere på hematopoietiske vekstfaktorer som interleukin-3 (IL-3) og granulocyt-makrofag-kolonistimulerende faktor (GM-CSF), som stimulerer proliferasjon og differensiering til mer modne megakaryocytiske former. Behandling med midler som forbolester (TPA) forsterker uttrykket av megakaryocytiske markører og induserer morfologiske endringer, inkludert cytoplasmatiske segmentering som ligner blodplate-dannelse. Disse egenskapene gjør CMK til et verdifullt verktøy for å undersøke utviklingen av den megakaryocytiske linjen, effektene av trisomi 21 på hematopoiesen og mekanismene bak leukemogenesen ved Downs syndrom.

Organism

Menneskelig

Tissue

Perifert blod

Disease

Myeloid leukemi assosiert med Downs syndrom

Kjennetegn

Age

10 måneder

Gender

Mann

Ethnicity

Japansk

Growth properties

Oppheng

Regulatoriske data

Citation

CMK (Cytion-katalognummer 305533)

CMK-celler | 305533

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0216

Biomolekylære data

Mutational profile	Mutasjon: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), heterozygot; Genfusjon: TP53-FXR2
--------------------	--

Håndtering

Culture Medium	DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO ₃ , m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)
----------------	--

Supplements	Suppler mediet med 20 % FBS
-------------	-----------------------------

Subculturing	Samle suspensjonscellene i et 15 ml rør, og vask de adherente cellene forsiktig med PBS uten kalsium og magnesium (bruk 3-5 ml for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber). Påfør Accutase (1-2 ml for T25-kolber, 2,5 ml for T75-kolber) og sørg for full dekning av cellelaget. La cellene inkubere i romtemperatur i 10 minutter. Etter inkubasjon kombineres og sentrifugeres både suspensjonen og de adherente cellene. Etter sentrifugering resuspenderes cellepelletten forsiktig, og cellesuspensjonen overføres til nye kolber som inneholder nytt medium.
--------------	---

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

Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.
---------------	---

CMK-celler | 305533

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150°C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37°C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196°C . Lagring ved -80°C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekyllær analyse

CMK-celler | 305533

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.