

Komórki CMK | 305533

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa CMK stanowi model ludzkiej białaczki megakarioblastycznej, wyhodowany z komórek pacjenta z zespołem Downa, u którego zdiagnozowano ostrą białaczkę megakarioblastyczną (AMKL). Komórki te mają istotne znaczenie w badaniach nad różnicowaniem megakariocytów oraz białaczką związaną z trisomią 21. Komórki CMK wykazują obecność markerów typowych dla megakariocytów, takich jak glikoproteiny GPIIb/IIIa i GPIb, które są kluczowymi składnikami błon płytek krwi. Obecność aktywności peroksydazy płytkowej (PPO), zlokalizowanej w otoczce jądrowej i retikulum endoplazmatycznym, ale nie w aparacie Golgiego, potwierdza megakariocytowe pochodzenie tych komórek. Analiza ultrastrukturalna ujawnia obecność ziarnistości cytoplazmatycznych przypominających ziarnistości α oraz błon demarkacyjnych, co dodatkowo potwierdza ich megakariocytowy charakter.

Komórki CMK charakteryzują się złożonym kariotypem, obejmującym niemal tetraploidię oraz specyficzną translokację der(17)t(11;17), obecną również w pierwotnych komórkach białaczkowych pacjenta. Ta zmiana genetyczna łączy linię komórkową ze stanem chorobowym u pacjenta, zapewniając wiarygodny model do badania patogenezy AMKL. Ponadto linia komórkowa CMK może reagować na hematopoetyczne czynniki wzrostu, takie jak interleukina-3 (IL-3) i czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF), które stymulują proliferację i różnicowanie w kierunku bardziej dojrzałych form megakariocytowych. Leczenie środkami takimi jak ester forbolowy (TPA) zwiększa ekspresję markerów megakariocytów i wywołuje zmiany morfologiczne, w tym segmentację cytoplazmatyczną przypominającą tworzenie płytek krwi. Cechy te sprawiają, że linia CMK stanowi cenne narzędzie do badania rozwoju linii megakariocytowej, wpływu trisomii 21 na hematopoezę oraz mechanizmów leukemogenezy w zespole Downa.

Organism Człowiek

Tissue Krew obwodowa

Disease Białaczka szpikowa związana z zespołem Downa

Charakterystyka

Age 10 miesięcy

Gender Męczyzna

Ethnicity Japoński

Growth properties Zawieszenie

Dane regulacyjne

Citation CMK (numer katalogowy Cytion 305533)

Komórki CMK | 305533

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0216

Dane biomolekularne

Mutational profile	Mutacja: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), heterozygotyczna; Fuzja genów: TP53-FXR2
--------------------	--

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
----------------	--

Supplements	Uzupełnić podłoże 20% FBS
-------------	---------------------------

Subculturing	Zebrać komórki zawiesiny do probówki o pojemności 15 ml i delikatnie przemyć przylegające komórki PBS pozbawionym wapnia i magnezu (użyć 3-5 ml dla kolb T25 i 5-10 ml dla kolb T75). Nałożyć Accutase (1-2 ml na kolby T25, 2,5 ml na kolby T75), zapewniając pełne pokrycie warstwy komórek. Pozostawić komórki do inkubacji w temperaturze pokojowej przez 10 minut. Po inkubacji połączyć i odwirować zarówno zawiesinę, jak i przylegające komórki. Po odwirowaniu ostrożnie zawiesić osad komórek i przenieść zawiesinę komórek do nowych kolb zawierających świeżą pożywkę.
--------------	--

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

Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.
---------------	---

Komórki CMK | 305533**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Komórki CMK | 305533

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.