

Células CMK | 305533

Informações gerais

Description

A linha celular CMK é um modelo de leucemia megacarioblástica humana estabelecido a partir de um doente com síndrome de Down diagnosticado com leucemia megacarioblástica aguda (LMCA). Estas células são importantes para a investigação sobre a diferenciação megacariocítica e a leucemia associada à trissomia 21. As células CMK apresentam marcadores típicos dos megacariócitos, tais como as glicoproteínas GPIIb/IIIa e GPIb, que são componentes-chave das membranas plaquetárias. A presença de atividade da peroxidase plaquetária (PPO), localizada no envelope nuclear e no retículo endoplasmático, mas não no aparelho de Golgi, confirma a linhagem megacariocítica destas células. A análise ultraestrutural revela a existência de grânulos citoplasmáticos semelhantes aos grânulos α e de membranas de demarcação, o que reforça a sua natureza megacariocítica.

As células CMK caracterizam-se por um cariótipo complexo, incluindo quase-tetraploidia e uma translocação específica, der(17)t(11;17), também presente nas células leucémicas originais do doente. Esta alteração genética estabelece uma ligação entre a linha celular e o estado da doença no doente, proporcionando um modelo fiável para o estudo da patogénese da AMKL. Além disso, a linha celular CMK pode responder a fatores de crescimento hematopoiéticos como a interleucina-3 (IL-3) e o fator estimulador de colónias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF), que estimulam a proliferação e a diferenciação para formas megacariocíticas mais maduras. O tratamento com agentes como o éster de forbol (TPA) aumenta a expressão de marcadores megacariocíticos e induz alterações morfológicas, incluindo a segmentação citoplasmática semelhante à formação de plaquetas. Estas características tornam a CMK uma ferramenta valiosa para investigar o desenvolvimento da linhagem megacariocítica, os efeitos da trissomia 21 na hematopoiese e os mecanismos da leucemogénese na síndrome de Down.

Organism

Humano

Tissue

Sangue periférico

Disease

Leucemia mielóide associada à síndrome de Down

Caraterísticas

Age

10 meses

Gender

Masculino

Ethnicity

Japonês

Growth properties

Suspensão

Dados regulamentares

Células CMK | 305533

Citation	CMK (número de catálogo da Cytion 305533)
-----------------	---

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

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

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

Dados biomoleculares

Mutational profile	Mutação: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), heterozigótica; Fusão gênica: TP53-FXR2
---------------------------	---

Manuseamento

Culture Medium	DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Completar o meio com 20% de FBS
--------------------	---------------------------------

Subculturing	Reunir as células em suspensão num tubo de 15 ml e lavar suavemente as células aderentes com PBS sem cálcio e magnésio (utilizar 3-5 ml para os frascos T25 e 5-10 ml para os frascos T75). Aplicar Accutase (1-2 ml para os frascos T25, 2,5 ml para os frascos T75), assegurando a cobertura total da camada celular. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 10 minutos. Após a incubação, combinar e centrifugar tanto a suspensão como as células aderentes. Após a centrifugação, ressuspender cuidadosamente o pellet de células e transferir a suspensão de células para novos frascos com meio fresco.
---------------------	--

Seeding density	3-5*10 ⁵ /ml
------------------------	-------------------------

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.
----------------------	---

Células CMK | 305533

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196°C . O armazenamento a -80°C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Células CMK | 305533

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.