

Celule CMK | 305533

Informații generale

Description

Linia celulară CMK este un model de leucemie megacarioblastică umană obținut de la un pacient cu sindromul Down diagnosticat cu leucemie megacarioblastică acută (AMKL). Aceste celule sunt importante pentru cercetarea diferențierii megacariocitare și a leucemiei asociate cu trisomia 21. Celulele CMK prezintă markeri tipici ai megacariocitelor, precum glicoproteinele GPIIb/IIIa și GPIb, care sunt componente cheie ale membranelor trombocitelor. Prezența activității peroxidazei trombocitare (PPO), localizată la nivelul învelișului nuclear și al reticulului endoplasmatic, dar nu și la nivelul aparatului Golgi, confirmă linia megacariocitară a acestor celule. Analiza ultrastructurală relevă existența unor granule citoplasmice asemănătoare granulelor α și a unor membrane de demarcație, ceea ce confirmă și mai mult natura lor megacariocitară.

Celulele CMK se caracterizează printr-un cariotip complex, incluzând o stare apropiată de tetraploidie și o translocatie specifică, der(17)t(11;17), prezentă și în celulele leucemice inițiale ale pacientului. Această alterare genetică leagă linia celulară de starea de boală a pacientului, oferind un model fiabil pentru studierea patogenzei AMKL. În plus, linia celulară CMK poate răspunde la factori de creștere hematopoietici precum interleukina-3 (IL-3) și factorul de stimulare a coloniilor de granulocite și macrofage (GM-CSF), care stimulează proliferarea și diferențierea în forme megacariocitare mai mature. Tratamentul cu agenți precum esterul de forbol (TPA) sporește expresia markerilor megacariocitari și induce modificări morfologice, inclusiv segmentarea citoplasmică asemănătoare formării trombocitelor. Aceste caracteristici fac din CMK un instrument valoros pentru studierea dezvoltării liniei megacariocitare, a efectelor trisomiei 21 asupra hematopoiezei și a mecanismelor leucemogenezei în sindromul Down.

Organism

Om

Tissue

Sânge periferic

Disease

Leucemia mieloidă asociată cu sindromul Down

Caracteristici

Age

10 luni

Gender

Masculin

Ethnicity

Japoneză

Growth properties

Suspensie

Date de reglementare

Citation

CMK (număr de catalog Cytion 305533)

Celule CMK | 305533

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0216

Date biomoleculare

Mutational profile Mutație: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), heterozigotă; Fuziune genică: TP53-FXR2

Manipulare

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)

Supplements Suplimentați mediul cu 20% FBS

Subculturing Se adună celulele în suspensie într-un tub de 15 ml și se spală ușor celulele aderente cu PBS lipsit de calciu și magneziu (se utilizează 3-5 ml pentru flacoane T25 și 5-10 ml pentru flacoane T75). Se aplică Accutase (1-2 ml pentru flacoane T25, 2,5 ml pentru flacoane T75) asigurând acoperirea completă a stratului celular. Se lasă celulele să se incubeze la temperatura camerei timp de 10 minute. După incubare, se combină și se centrifughează atât suspensia, cât și celulele aderente. După centrifugare, resuspendați cu atenție peletul celular și transferați suspensia celulară în flacoane noi care conțin mediu proaspăt.

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

Freeze medium Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule CMK | 305533

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Celule CMK | 305533

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.