

CMK-celler | 305533

Allmän information

Description

CMK-cellinjen är en modell för human megakaryoblastisk leukemi som har etablerats utifrån en patient med Downs syndrom som diagnostiserats med akut megakaryoblastisk leukemi (AMKL). Dessa celler är viktiga för forskning om megakaryocytisk differentiering och leukemi associerad med trisomi 21. CMK-celler uppvisar markörer som är typiska för megakaryocyter, såsom glykoproteinerna GPIIb/IIIa och GPIb, vilka är nyckelkomponenter i trombocytmembranen. Förekomsten av trombocytperoxidasaktivitet (PPO), lokaliserad till kärnhinnan och det endoplasmatiska retiklet men inte till Golgi-apparaten, bekräftar dessa cellers megakaryocytiska härstamning. Ultrastrukturell analys visar förekomsten av cytoplasmatiska granuler som liknar α -granuler och avgränsningsmembran, vilket ytterligare bekräftar deras megakaryocytiska natur.

CMK-celler kännetecknas av en komplex karyotyp, inklusive nära tetraploidi och en specifik translokation, der(17)t(11;17), som också förekommer i patientens ursprungliga leukemiceller. Denna genetiska förändring kopplar cellinjen tillbaka till sjukdomstillståndet hos patienten och ger en tillförlitlig modell för att studera AMKL-patogenesen. Dessutom kan CMK-cellinjen svara på hematopoetiska tillväxtfaktorer som interleukin-3 (IL-3) och granulocyt-makrofagkolonistimulerande faktor (GM-CSF), vilka stimulerar proliferation och differentiering till mer mogna megakaryocytiska former. Behandling med substanser som forbolester (TPA) förstärker uttrycket av megakaryocytiska markörer och inducerar morfologiska förändringar, inklusive cytoplasmatiske segmentering som liknar trombocytbildning. Dessa egenskaper gör CMK till ett värdefullt verktyg för att undersöka utvecklingen av den megakaryocytiska linjen, effekterna av trisomi 21 på hematopoesen samt mekanismerna bakom leukemogenes vid Downs syndrom.

Organism

Människan

Tissue

Perifert blod

Disease

Myeloid leukemi i samband med Downs syndrom

Egenskaper

Age

10 månader

Gender

Man

Ethnicity

Japanska

Growth properties

Avstängning

Lagstadgade uppgifter

Citation

CMK (Cytion-katalognummer 305533)

CMK-celler | 305533

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0216**Biomolekylära data****Mutational profile** Mutation: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), heterozygot; Genfusion: TP53-FXR2**Hantering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Komplettera mediet med 20% FBS**Subculturing** Samla de suspenderade cellerna i ett 15 ml rör och tvätta försiktigt de vidhäftande cellerna med PBS utan kalcium och magnesium (använd 3-5 ml för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar). Applicera Accutase (1-2 ml för T25-kolvar, 2,5 ml för T75-kolvar) och se till att cellskiktet täcks helt. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 10 minuter. Efter inkubationen, kombinera och centrifugera både suspensionen och de vidhäftande cellerna. Efter centrifugering, resuspendera försiktigt cellpelleten och överför cellsuspensionen till nya kolvar med nytt medium.**Seeding density** $3-5 \times 10^5$ /ml**Freeze medium** Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

CMK-celler | 305533

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekyllär analys

CMK-celler | 305533

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.