

CMK bunky | 305533

Všeobecné informácie

Description

Bunka CMK je model ľudskej megakaryoblastovej leukémie, ktorý bol vytvorený z pacienta s Downovým syndrómom, u ktorého bola diagnostikovaná akútna megakaryoblastová leukémia (AMKL). Tieto bunky sú dôležité pre výskum megakaryocytovej diferenciácie a leukémie spojenej s trizómiou 21. Bunky CMK vykazujú markery typické pre megakaryocyty, ako sú glykoproteíny GPIIb/IIIa a GPIb, ktoré sú kľúčovými zložkami membrán krvných doštičiek. Prítomnosť aktivity trombocytovej peroxidázy (PPO), lokalizovanej v jadrovej obálke a endoplazmatickom retikule, avšak nie v Golgiho aparáte, potvrdzuje megakaryocytovú líniu týchto buniek. Ultraštruktúrna analýza odhaľuje existenciu cytoplazmatických granúl pripomínajúcich α-granuly a demarkačných membrán, čo ďalej potvrdzuje ich megakaryocytovú povahu.

Bunky CMK sa vyznačujú komplexným karyotypom, vrátane takmer tetraploidie a špecifickej translokácie der(17)t(11;17), ktorá sa vyskytuje aj v pôvodných leukemických bunkách pacienta. Táto genetická zmena spája bunkovú líniu so zdravotným stavom pacienta, čím poskytuje spoľahlivý model na štúdium patogenézy AMKL. Okrem toho môže bunková línia CMK reagovať na hematopoetické rastové faktory, ako je interleukín-3 (IL-3) a faktor stimulujúci kolónie granulocytov a makrofágov (GM-CSF), ktoré stimulujú proliferáciu a diferenciáciu na zrelšie megakaryocytárne formy. Liečba látkami, ako je forbolester (TPA), zvyšuje expresiu megakaryocytárných markerov a indukuje morfológické zmeny, vrátane segmentácie cytoplazmy pripomínajúcej tvorbu krvných doštičiek. Vďaka týmto vlastnostiam je CMK cenným nástrojom na skúmanie vývoja megakaryocytovej línie, vplyvu trizómie 21 na hematopoézu a mechanizmov leukemogenézy pri Downovom syndróme.

Organism

Ľudské

Tissue

Periférna krv

Disease

Mieloidná leukémia spojená s Downovým syndrómom

Charakteristika

Age

10 mesiacov

Gender

Muži

Ethnicity

Japonský

Growth properties

Pozastavenie

Regulačné údaje

Citation

CMK (katalógové číslo Cytion 305533)

Biosafety level

1

CMK bunky | 305533

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0216

Biomolekulárne údaje

Mutational profile Mutácia: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), heterozygotná; Génová fúzia: TP53-FXR2

Spracovanie

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Supplements Doplníte médium o 20 % FBS

Subculturing Zhromaždíte suspenzné bunky do 15 ml skúmavky a jemne premyte priľnuté bunky PBS bez vápnika a horčička (použite 3-5 ml pre banky T25 a 5-10 ml pre banky T75). Aplikujte Accutase (1 - 2 ml pre banky T25, 2,5 ml pre banky T75), aby ste zabezpečili úplné pokrytie bunkovej vrstvy. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 10 minút. Po inkubácii spojte a odstredte suspenziu aj adherované bunky. Po odstredení opatrne resuspendujte bunkovú peletu a preneste bunkovú suspenziu do nových baniek obsahujúcich čerstvé médium.

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

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

CMK bunky | 305533

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

CMK bunky | 305533

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.