

CMK-celice | 305533

Splošne informacije

Description

Celična linija CMK je model človeške megakarioblastne levkemije, vzpostavljen na podlagi bolnika z Downovim sindromom, pri katerem je bila diagnosticirana akutna megakarioblastna levkemija (AMKL). Te celice so pomembne za raziskave megakariocitne diferenciacije in levkemije, povezane s trisomijo 21. Celice CMK izražajo markerje, značilne za megakariocyte, kot so glikoproteini GPIIb/IIIa in GPIb, ki so ključne sestavine membran trombocitov. Prisotnost aktivnosti trombocitne peroksidaze (PPO), lokalizirane v jedrni ovojnici in endoplazmatskem retikulumu, ne pa v Golgiovem aparatu, potrjuje megakariocitno linijo teh celic. Ultrastrukturalna analiza razkriva obstoj citoplazemskih granul, ki spominjajo na α -granule, in demarkacijskih membran, kar dodatno potrjuje njihovo megakariocitno naravo.

Za celice CMK je značilen kompleksen kariotip, vključno s skorajšnjo tetraploidijo in specifično translokacijo der(17)t(11;17), ki je prisotna tudi v prvotnih levkemijskih celicah bolnika. Ta genetska sprememba povezuje celično linijo z bolezenskim stanjem pri bolniku in zagotavlja zanesljiv model za preučevanje patogeneze AMKL. Poleg tega se lahko celična linija CMK odziva na hematopoetske rastne faktorje, kot sta interleukin-3 (IL-3) in faktor, ki stimulira kolonije granulocitov in makrofagov (GM-CSF), ki spodbujata proliferacijo in diferenciacijo v zrelejše megakariocitne oblike. Zdravljenje z zdravili, kot je forbol ester (TPA), poveča izražanje megakariocitnih markerjev in povzroči morfološke spremembe, vključno s citoplazmatsko segmentacijo, ki spominja na nastajanje trombocitov. Te lastnosti naredijo CMK za dragoceno orodje pri raziskovanju razvoja megakariocitne linije, vplivov trisomije 21 na hematopoiezo ter mehanizmov nastanka levkemije pri Downovem sindromu.

Organism

Človek

Tissue

Periferna kri

Disease

Mieloidna levkemija, povezana z Downovim sindromom

Značilnosti

Age

10 mesecev

Gender

Moški

Ethnicity

Japonski

Growth properties

Vzmetenje

Regulativni podatki

Citation

CMK (katalogska številka Cytion 305533)

Biosafety level

1

CMK-celice | 305533

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0216

Biomolekularni podatki

Mutational profile Mutacija: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), heterozigotna; genska fuzija: TP53-FXR2

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 20 % FBS**Subculturing** V 15 ml epruveti zberite suspenzijske celice in jih nežno sperite s PBS brez kalcija in magnezija (uporabite 3-5 ml za bučke T25 in 5-10 ml za bučke T75). Uporabite Accutase (1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75), tako da popolnoma prekrijete plast celic. Počakajte, da se celice inkubirajo pri sobni temperaturi 10 minut. Po inkubaciji združite in centrifugirajte suspenzijo in adherentne celice. Po centrifugiranju previdno ponovno suspendirajte celično pelet in celično suspenzijo prenesite v nove bučke s svežim gojiščem.**Seeding density** $3-5 \times 10^5/\text{ml}$ **Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

CMK-celice | 305533

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

CMK-celice | 305533

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.