

CMK Hücreleri | 305533

Genel bilgi

Description

CMK hücre hattı, akut megakaryoblastik lösemi (AMKL) tanısı konmuş bir Down sendromlu hastadan elde edilen bir insan megakaryoblastik lösemi modelidir. Bu hücreler, megakaryositik farklılaşma ve trizomi 21 ile ilişkili lösemi üzerine yapılan araştırmalar açısından önemlidir. CMK hücreleri, trombosit zarlarının temel bileşenleri olan GPIIb/IIIa ve GPIb glikoproteinleri gibi megakaryositlere özgü belirteçler sergiler. Golgi aparatında değil, nükleer zar ve endoplazmik retikulumda lokalize olan trombosit peroksidaz (PPO) aktivitesinin varlığı, bu hücrelerin megakaryositik soyunu doğrulamaktadır. Ultrastrüktürel analiz, α -granüllere benzeyen sitoplazmik granüllerin ve sınırlayıcı membranların varlığını ortaya koyarak, bu hücrelerin megakaryositik doğasını daha da doğrulamaktadır.

CMK hücreleri, neredeyse tetraploidi ve hastanın orijinal lösemik hücrelerinde de bulunan der(17)t(11;17) adlı spesifik bir translokasyon dahil olmak üzere karmaşık bir karyotip ile karakterize edilir. Bu genetik değişiklik, hücre hattını hastadaki hastalık durumuyla ilişkilendirerek AMKL patogenezi incelemek için güvenilir bir model sunar. Ek olarak, CMK hücre hattı, proliferasyonu ve daha olgun megakaryositik formlara farklılaşmayı uyaran interlökin-3 (IL-3) ve granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) gibi hematopoietik büyüme faktörlerine yanıt verebilir. Forbol ester (TPA) gibi ajanlarla tedavi, megakaryositik belirteçlerin ekspresyonunu artırır ve trombosit oluşumuna benzeyen sitoplazmik segmentasyon dahil olmak üzere morfolojik değişiklikleri indükler. Bu özellikler, CMK'yi megakaryositik soyun gelişimini, trizomi 21'in hematopoez üzerindeki etkilerini ve Down sendromunda lösemogenez mekanizmalarını araştırmak için değerli bir araç haline getirir.

Organism

İnsan

Tissue

Periferik kan

Disease

Down sendromuyla ilişkili miyeloid lösemi

Özellikler

Age

10 ay

Gender

Erkek

Ethnicity

Japonca

Growth properties

Süspansiyon

Düzenleyici Veriler

Citation

CMK (Cytion katalog numarası 305533)

Biosafety level

1

CMK Hücreleri | 305533

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0216

Biyomoleküler Veriler

Mutational profile Mutasyon: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), heterozigot; Gen füzyonu: TP53-FXR2

Elleçleme

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)

Supplements Ortamı %20 FBS ile takviye edin

Subculturing Süspansiyon hücrelerini 15 ml'lik bir tüpte toplayın ve yapışık hücreleri kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile nazikçe yıkayın (T25 şişeleri için 3-5 ml ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın). Accutase uygulayın (T25 şişeler için 1-2 ml, T75 şişeler için 2,5 ml) ve hücre tabakasının tamamen kaplandığından emin olun. Hücreleri 10 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübasyona bırakın. Inkübasyonun ardından, hem süspansiyonu hem de yapışık hücreleri birleştirin ve santrifüjleyin. Santrifüjden sonra hücre peletini dikkatlice yeniden süspanse edin ve hücre süspansiyonunu taze ortam içeren yeni şişelere aktarın.

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

Freeze medium Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

CMK Hücreleri | 305533

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz

CMK Hücreleri | 305533

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.