

Клітини СМК | 305533

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія СМК — це модель людської мегакаріобластної лейкемії, створена на основі зразка, отриманого від пацієнта з синдромом Дауна, у якого було діагновано гостру мегакаріобластну лейкемію (ГМКЛ). Ці клітини мають важливе значення для досліджень диференціації мегакаріоцитів та лейкемії, пов'язаної з трисомією 21. Клітини СМК мають маркери, характерні для мегакаріоцитів, такі як глікопротеїни GPIIb/IIIa та GPIb, які є ключовими компонентами мембран тромбоцитів. Наявність активності тромбоцитарної пероксидази (PPO), локалізованої в ядерній оболонці та ендоплазматичному ретикулумі, але не в апараті Гольджі, підтверджує мегакаріоцитарний походження цих клітин. Ультроструктурний аналіз виявляє наявність цитоплазматичних гранул, схожих на α-гранули, та демаркаційних мембран, що додатково підтверджує їх мегакаріоцитарну природу.

Клітини СМК характеризуються складним каріотипом, що включає майже тетраплоїдію та специфічну транслокацію der(17)t(11;17), яка також присутня в оригінальних лейкозних клітинах пацієнта. Ця генетична зміна пов'язує клітинну лінію із захворюванням у пацієнта, забезпечуючи надійну модель для вивчення патогенезу гострої мієлоїдної лейкемії (АМКЛ). Крім того, клітинна лінія СМК може реагувати на гематопоетичні фактори росту, такі як інтерлейкін-3 (IL-3) та гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор (GM-CSF), які стимулюють проліферацію та диференціацію у більш зрілі мегакаріоцитарні форми. Лікування такими препаратами, як форболовий естер (TPA), посилює експресію мегакаріоцитарних маркерів та індукує морфологічні зміни, зокрема сегментацію цитоплазми, що нагадує утворення тромбоцитів. Ці особливості роблять СМК цінним інструментом для дослідження розвитку мегакаріоцитарного ряду, впливу трисомії 21 на гемопоез та механізмів лейкогенезу при синдромі Дауна.

Organism	Людина
Tissue	Периферична кров
Disease	Мієлоїдна лейкемія, пов'язана із синдромом Дауна

Характеристики

Age	10 місяців
Gender	Чоловік
Ethnicity	Японський
Growth properties	Підвіска

Нормативні дані

Клітини CMK | 305533

Citation CMK (номер у каталозі Cytion 305533)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0216

Біомолекулярні дані

Mutational profile Мутація: TP53, p.Asp49His (с.145G>C), гетерозиготна; генна фузія: TP53-FXR2

Обробка

Culture Medium ДЕМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO₃, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)**Supplements** Додайте до середовища 20% FBS**Subculturing** Зберіть суспензію клітин у пробірку на 15 мл і обережно відмийте прилиплі клітини PBS, що не містить кальцію і магнію (використовуйте 3-5 мл для колб T25 і 5-10 мл для колб T75). Нанесіть ацетазу (1-2 мл для колб T25, 2,5 мл для колб T75), забезпечуючи повне покриття клітинного шару. Інкубуйте клітини при кімнатній температурі протягом 10 хвилин. Після інкубації об'єднайте і центрифугуйте суспензію і прилиплі клітини. Після центрифугування обережно ресуспендуйте клітинну гранулу і перенесіть клітинну суспензію в нові колби зі свіжим середовищем.**Seeding density** $3-5 \times 10^5$ /мл**Freeze medium** Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини СМК | 305533

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196°C . Зберігання при -80°C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Клітини CMK | 305533

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.