

Células CMK | 305533

Información general

Description

La línea celular CMK es un modelo de leucemia megacarioblástica humana establecido a partir de un paciente con síndrome de Down al que se le diagnosticó leucemia megacarioblástica aguda (LMCA). Estas células son importantes para la investigación sobre la diferenciación megacariocítica y la leucemia asociada a la trisomía 21. Las células CMK presentan marcadores típicos de los megacariocitos, como las glicoproteínas GPIIb/IIIa y GPIb, que son componentes clave de las membranas plaquetarias. La presencia de actividad de la peroxidasa plaquetaria (PPO), localizada en la envoltura nuclear y el retículo endoplásmico, pero no en el aparato de Golgi, confirma el linaje megacariocítico de estas células. El análisis ultraestructural revela la existencia de gránulos citoplasmáticos que se asemejan a los gránulos α y a las membranas de demarcación, lo que valida aún más su naturaleza megacariocítica.

Las células CMK se caracterizan por un cariotipo complejo, que incluye una casi tetraploidía y una translocación específica, der(17)t(11;17), también presente en las células leucémicas originales del paciente. Esta alteración genética vincula la línea celular con el estado de la enfermedad en el paciente, lo que proporciona un modelo confiable para estudiar la patogénesis de la LMA. Además, la línea celular CMK puede responder a factores de crecimiento hematopoyéticos como la interleucina-3 (IL-3) y el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), los cuales estimulan la proliferación y la diferenciación hacia formas megacariocíticas más maduras. El tratamiento con agentes como el éster de forbol (TPA) potencia la expresión de marcadores megacariocíticos e induce cambios morfológicos, incluida la segmentación citoplasmática similar a la formación de plaquetas. Estas características convierten a la CMK en una herramienta valiosa para investigar el desarrollo del linaje megacariocítico, los efectos de la trisomía 21 en la hematopoyesis y los mecanismos de la leucemogénesis en el síndrome de Down.

Organism

Humano

Tissue

Sangre periférica

Disease

Leucemia mieloide asociada al síndrome de Down

Características

Age

10 meses

Gender

Hombre

Ethnicity

Japonés

Growth properties

Suspensión

Datos normativos

Células CMK | 305533

Citation	CMK (número de catálogo de Cytion 305533)
-----------------	---

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_0216
-----------------------------	-----------

Datos biomoleculares

Mutational profile	Mutación: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), heterocigótica; Fusión génica: TP53-FXR2
---------------------------	---

Manejo

Culture Medium	DMEM, p/v: 4,5 g/L de glucosa, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , p/v: 1,0 mM de piruvato de sodio (número de artículo de Cytion 820300a)
-----------------------	---

Supplements	Añade al medio un 20 % de FBS
--------------------	-------------------------------

Subculturing	Recoja las células en suspensión en un tubo de 15 ml y lave suavemente las células adherentes con PBS sin calcio ni magnesio (utilice de 3 a 5 ml para frascos T25 y de 5 a 10 ml para frascos T75). Aplique Accutase (1 a 2 ml para frascos T25, 2,5 ml para frascos T75) asegurándose de cubrir completamente la capa celular. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 10 minutos. Tras la incubación, combine y centrifugue tanto la suspensión como las células adheridas. Después de la centrifugación, resuspender cuidadosamente el sedimento celular y transferir la suspensión celular a nuevos frascos que contengan medio fresco.
---------------------	---

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

Freeze medium	Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.
----------------------	---

Células CMK | 305533**Thawing and
Culturing Cells**

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150 °C para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37 °C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiere todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % de CO₂, atmósfera humidificada.

**Shipping
Conditions**

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente -78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

**Storage
Conditions**

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y -196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a -80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Células CMK | 305533

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.