

Cellules CMK | 305533

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire CMK est un modèle de leucémie mégacaryoblastique humaine mis au point à partir d'un patient atteint du syndrome de Down chez qui une leucémie mégacaryoblastique aiguë (LMMA) avait été diagnostiquée. Ces cellules revêtent une importance particulière pour la recherche sur la différenciation mégacaryocytaire et la leucémie associée à la trisomie 21. Les cellules CMK présentent des marqueurs typiques des mégacaryocytes, tels que les glycoprotéines GPIIb/IIIa et GPIb, qui sont des composants clés des membranes plaquettaires. La présence d'une activité de la peroxydase plaquettaire (PPO), localisée dans l'enveloppe nucléaire et le réticulum endoplasmique, mais non dans l'appareil de Golgi, confirme la lignée mégacaryocytaire de ces cellules. L'analyse ultrastructurale révèle l'existence de granules cytoplasmiques ressemblant à des granules α et de membranes de démarcation, ce qui confirme davantage leur nature mégacaryocytaire.

Les cellules CMK se caractérisent par un caryotype complexe, comprenant une quasi-tétraploïdie et une translocation spécifique, der(17)t(11;17), également présente dans les cellules leucémiques d'origine du patient. Cette altération génétique relie la lignée cellulaire à l'état pathologique du patient, offrant ainsi un modèle fiable pour l'étude de la pathogenèse de la LMA-CMK. De plus, la lignée cellulaire CMK peut répondre à des facteurs de croissance hématopoïétiques tels que l'interleukine-3 (IL-3) et le facteur de stimulation des colonies de granulocytes et de macrophages (GM-CSF), qui stimulent la prolifération et la différenciation en formes mégacaryocytaires plus matures. Le traitement par des agents tels que l'ester de phorbol (TPA) renforce l'expression des marqueurs mégacaryocytaires et induit des changements morphologiques, notamment une segmentation cytoplasmique ressemblant à la formation des plaquettes. Ces caractéristiques font de la lignée CMK un outil précieux pour étudier le développement de la lignée mégacaryocytaire, les effets de la trisomie 21 sur l'hématopoïèse et les mécanismes de la leucémogénèse dans le syndrome de Down.

Organism

Humain

Tissue

Sang périphérique

Disease

Leucémie myéloïde associée au syndrome de Down

Caractéristiques

Age

10 mois

Gender

Homme

Ethnicity

Japonais

Growth properties

Suspension

Données réglementaires

Cellules CMK | 305533

Citation	CMK (numéro de catalogue Cytion 305533)
-----------------	---

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

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

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

Données biomoléculaires

Mutational profile	Mutation : TP53, p.Asp49His (c.145G>C), hétérozygote; Fusion génique : TP53-FXR2
---------------------------	--

Manipulation

Culture Medium	DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de NaHCO ₃ , p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Ajouter 20 % de FBS au milieu de culture
--------------------	--

Subculturing	Recueillez les cellules en suspension dans un tube de 15 ml et lavez délicatement les cellules adhérentes avec du PBS sans calcium ni magnésium (utilisez 3 à 5 ml pour les flacons T25 et 5 à 10 ml pour les flacons T75). Appliquez de l'Accutase (1 à 2 ml pour les flacons T25, 2,5 ml pour les flacons T75) en veillant à bien recouvrir toute la couche cellulaire. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 10 minutes. Après l'incubation, combinez la suspension et les cellules adhérentes, puis centrifugez le tout. Après la centrifugation, remettez soigneusement le culot cellulaire en suspension et transférez la suspension cellulaire dans de nouveaux flacons contenant du milieu frais.
---------------------	---

Seeding density	3 à 5 × 10 ⁵ /ml
------------------------	-----------------------------

Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.
----------------------	---

Cellules CMK | 305533

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Cellules CMK | 305533

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.