

Células CMK | 305533

Informações gerais

Description

A linhagem celular CMK é um modelo de leucemia megacarioblástica humana estabelecido a partir de um paciente com síndrome de Down diagnosticado com leucemia megacarioblástica aguda (LMCA). Essas células são importantes para pesquisas sobre a diferenciação megacariocítica e a leucemia associada à trissomia do cromossomo 21. As células CMK apresentam marcadores típicos dos megacariócitos, como as glicoproteínas GPIIb/IIIa e GPIb, que são componentes-chave das membranas plaquetárias. A presença de atividade da peroxidase plaquetária (PPO), localizada no envelope nuclear e no retículo endoplasmático, mas não no aparelho de Golgi, confirma a linhagem megacariocítica dessas células. A análise ultraestrutural revela a existência de grânulos citoplasmáticos semelhantes aos grânulos α e de membranas de demarcação, validando ainda mais sua natureza megacariocítica.

As células CMK são caracterizadas por um cariótipo complexo, incluindo quase-tetraploidia e uma translocação específica, der(17)t(11;17), também presente nas células leucêmicas originais do paciente. Essa alteração genética vincula a linhagem celular ao quadro clínico do paciente, proporcionando um modelo confiável para o estudo da patogênese da LMA. Além disso, a linhagem celular CMK pode responder a fatores de crescimento hematopoiéticos, como a interleucina-3 (IL-3) e o fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF), que estimulam a proliferação e a diferenciação em formas megacariocíticas mais maduras. O tratamento com agentes como o éster de forbol (TPA) aumenta a expressão de marcadores megacariocíticos e induz alterações morfológicas, incluindo segmentação citoplasmática semelhante à formação de plaquetas. Essas características tornam a CMK uma ferramenta valiosa para investigar o desenvolvimento da linhagem megacariocítica, os efeitos da trissomia 21 na hematopoiese e os mecanismos da leucemogênese na síndrome de Down.

Organism

Humano

Tissue

Sangue periférico

Disease

Leucemia mieloide associada à síndrome de Down

Características

Age

10 meses

Gender

Masculino

Ethnicity

Japonês

Growth properties

Suspensão

Dados regulatórios

Células CMK | 305533

Citation CMK (número de catálogo da Cytion 305533)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0216

Dados biomoleculares

Mutational profile Mutação: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), heterozigótica; Fusão gênica: TP53-FXR2

Manuseio

Culture Medium DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO₃, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)**Supplements** Adicione 20% de FBS ao meio**Subculturing** Recolha as células em suspensão em um tubo de 15 ml e lave delicadamente as células aderentes com PBS sem cálcio e magnésio (use 3 a 5 ml para frascos T25 e 5 a 10 ml para frascos T75). Aplique Accutase (1 a 2 ml para frascos T25, 2,5 ml para frascos T75), garantindo a cobertura total da camada celular. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 10 minutos. Após a incubação, combine e centrifugue tanto a suspensão quanto as células aderentes. Após a centrifugação, ressuspensa cuidadosamente o sedimento celular e transfira a suspensão celular para novos frascos contendo meio fresco.**Seeding density** $3-5 \times 10^5/\text{ml}$ **Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células CMK | 305533

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células CMK | 305533

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.