Product sheet

Tế bào CMK | 305533

Thông tin chung

Description	Dòng tế bào CMK là một mô hình bệnh bạch cầu megakaryoblastic ở người được thiết lập từ một bệnh nhân mắc hội chứng Down được chẩn đoán mắc bệnh bạch cầu megakaryoblastic cấp tính (AMKL). Các tế bào này có ý nghĩa quan trọng trong nghiên cứu về quá trình biệt hóa megakaryocyte và bệnh bạch cầu liên quan đến hội chứng Down (trisomy 21). Các tế bào CMK biểu hiện các dấu ấn đặc trưng của megakaryocyte, chẳng hạn như các glycoprotein GPIIb/IIIa và GPIb, là các thành phần chính của màng tiểu cầu. Sự hiện diện của hoạt tính peroxidase tiểu cầu (PPO), tập trung tại vỏ nhân và lưới nội chất nhưng không có ở bộ máy Golgi, khẳng định nguồn gốc tế bào megakaryocytic của các tế bào này. Phân tích siêu cấu trúc cho thấy sự tồn tại của các hạt tế bào chất giống như hạt α và màng phân cách, càng khẳng định bản chất megakaryocytic của chúng. Các tế bào CMK được đặc trưng bởi một kiểu nhiễm sắc thể phức tạp, bao gồm gần như tứ bội thể và một sự chuyển vị cụ thể, der(17)t(11;17), cũng có mặt trong các tế bào bạch cầu nguyên phát của bệnh nhân. Sự thay đổi di truyền này liên kết dòng tế bào với tình trạng bệnh của bệnh nhân, cung cấp một mô hình đáng tin cậy để nghiên cứu cơ chế bệnh sinh của AMKL. Ngoài ra, dòng tế bào CMK có thể đáp ứng với các yếu tố tăng trưởng tạo máu như interleukin-3 (IL-3) và yếu tố kích thích tạo cụm bạch cầu hạt-đại thực bào (GM-CSF), giúp kích thích sự tăng sinh và biệt hóa thành các dạng tế bào megakaryocyte trưởng thành hơn. Việc điều trị bằng các chất như phorbol ester (TPA) làm tăng biểu hiện của các dấu hiệu megakaryocytic và gây ra những thay đổi về hình thái, bao gồm sự phân đoạn tế bào chất giống như quá trình hình thành tiểu cầu. Những đặc điểm này khiến CMK trở thành một công cụ quý giá để nghiên cứu sự phát triển của dòng tế bào megakaryocytic, tác động của trisomy 21 lên quá trình tạo máu, và các cơ chế gây bệnh bạch cầu trong hội chứng Down.
Organism	Con người
Tissue	Máu ngoại vi
Disease	Bệnh bạch cầu tủy liên quan đến hội chứng Down

Đặc điểm

Age	10 tháng
Gender	Nam
Ethnicity	Nhật Bản
Growth properties	Hệ thống treo

Dữ liệu quy định

Citation	CMK (Mã sản phẩm Cytion 305533)

Tế bào CMK | 305533

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0216

Dữ liệu sinh học phân tử

Mutational profile	Đột biến: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), dị hợp tử; Sự hợp nhất gen: TP53-FXR2

Xử lý

Culture Medium	DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L $NaHCO_3$, chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)
Supplements	Bổ sung 20% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy
Subculturing	Thu thập các tế bào treo lơ lửng vào ống 15 ml và nhẹ nhàng rửa các tế bào bám dính bằng PBS không chứa canxi và magiê (sử dụng 3-5 ml cho bình T25 và 5-10 ml cho bình T75). Áp dụng Accutase (1-2 ml cho bình T25, 2,5 ml cho bình T75) đảm bảo phủ đều lớp tế bào. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Sau khi ủ, trộn và ly tâm cả tế bào treo lơ lửng và tế bào bám dính. Sau khi ly tâm, nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào và chuyển hỗn hợp tế bào vào bình mới chứa môi trường tươi.
Seeding density	3–5 × 10^5/ml
Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để cải thiện quá trình phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Thawing and Culturing Cells

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.

2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.

3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.

4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.

5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.

6. Ly tâm hỗn hợp ở 300 x g trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.

7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.

8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO_2}$, môi trường ẩm.

Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng −150 đến −196 °C. Việc bảo quản ở −80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng và phân tích phân tử

Sterility	Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang. Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.