CMK

305533

YLEISTÄ TIETOA

Kuvaus

CMK-solulinja on ihmisen megakaryoblastisen leukemian malli, joka on kehitetty Downin oireyhtymää sairastavalta potilaalta, jolla oli diagnosoitu akuutti megakaryoblastinen leukemia (AMKL). Nämä solut ovat tärkeitä megakaryosyyttien erilaistumista ja trisomia 21:een liittyvää leukemiaa koskevassa tutkimuksessa. CMK-soluissa esiintyy megakaryosyytteille tyypillisiä markkereita, kuten glykoproteiineja GPIIb/IIIa ja GPIb, jotka ovat verihiutaleiden kalvojen avainkomponentteja. Verihiutaleiden peroksidaasiaktiivisuus (PPO), joka on paikallistunut tumakoteloon ja endoplasmakalvostoon mutta ei Golgi-laitteeseen, vahvistaa näiden solujen megakaryosyyttisen alkuperän. Ultrastruktuurianalyysi paljastaa α-rakeita muistuttavien sytoplasmisten rakeiden ja rajakalvojen olemassaolon, mikä vahvistaa entisestään niiden megakaryosyyttistä luonnetta.
CMK-soluille on ominaista monimutkainen karyotyyppi, johon kuuluu lähes tetraploidia ja spesifinen translokaatio der(17)t(11;17), joka esiintyy myös potilaan alkuperäisissä leukemiasoluissa. Tämä geneettinen muutos yhdistää solulinjan potilaan sairaustilaan ja tarjoaa luotettavan mallin AMKL:n patogeneesin tutkimiseen. Lisäksi CMK-solulinja voi reagoida hematopoieettisiin kasvutekijöihin, kuten interleukiini-3:een (IL-3) ja granulosyytti-makrofagi-koloniastimuloivaan tekijään (GM-CSF), jotka stimuloivat solujen lisääntymistä ja erilaistumista kypsemmiksi megakaryosyyttimuodoiksi. Hoito forbolesterin (TPA) kaltaisilla aineilla tehostaa megakaryosyyttisten merkkiaineiden ilmentymistä ja aiheuttaa morfologisia muutoksia, mukaan lukien verihiutaleiden muodostumista muistuttavan sytoplasman segmentoitumisen. Nämä ominaisuudet tekevät CMK:sta arvokkaan työkalun megakaryosyyttisen solulinjan kehityksen, trisomian 21 vaikutusten hematopoieesiin sekä leukemogeneesin mekanismien tutkimiseen Downin oireyhtymässä.

Kudos	Perifeerinen veri
Sairaus	Downin oireyhtymään liittyvä myeloinen leukemia

LUOKITTELU

Organismi	Ihminen
Sukupuoli	Mies
Kasvuominaisuudet	Jousitus
Bioturvallisuustaso	1

TUNNISTEET

Lähdeviite

CMK (Cytionin tuotenumero 305533)

NCBI-verotunnus	9606
Cellosaurus	CVCL_0216

ILMENTYMINEN JA ALTTIUS

Mutaatioprofiili

Mutaatio: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), heterotsygootti; Geenifuusio: TP53-FXR2

KÄSITTELY JA VILJELY

Viljelyalusta

DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

Inkubaatioilma	37 °C, 5 %CO2, kostutettu ilmakehä.

Ravintolisät

Täydennetään elatusainetta 20 %:lla FBS:llä

Soluviljely

Kerää suspensiosolut 15 ml:n putkeen ja pese kiinni olevat solut varovasti PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia (3-5 ml T25-pulloissa ja 5-10 ml T75-pulloissa). Levitä Accutasea (1-2 ml T25-pulloihin, 2,5 ml T75-pulloihin) varmistaen, että solukerros peittyy kokonaan. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 10 minuuttia. Inkuboinnin jälkeen yhdistetään ja sentrifugoidaan sekä suspensio että adherentit solut. Sentrifugoinnin jälkeen solupelletti suspendoidaan varovasti uudelleen ja siirretään solususpensio uusiin pulloihin, jotka sisältävät tuoretta väliaineita.

Kylvötiheys	3–5 × 10^5/ml

Sulatus ja viljely

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

LAADUNVALVONTA JA KRYOSÄILYTYS

Hedelmättömyys

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.
Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

Jäädytysaine	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Säilytysolosuhteet

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Toimitusehdot

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

LAHJOITTAJA

Luovuttajan ikä	10 kuukautta
Etnisyys	Japanilainen

OIKEUDELLISET JA TURVALLISUUSASIAT

Turvallisuusohjeet

Kun suunnitellaan kryoputken säilyttämistä nestemäisessä typessä sulatusta varten, on noudatettava tiukkoja turvatoimenpiteitä. Asianmukaiset suojakäsineet ja -vaatteet ovat välttämättömiä, ja kasvonaamarin tai suojalasien käyttö on välttämätöntä siirrettäessä jäädytettyjä näytteitä nestetyppisäiliöön tai siitä pois. Tällä pyritään pienentämään loukkaantumisriskiä, joka aiheutuu kryoputkien mahdollisista räjähdyksistä, jotka voivat aiheuttaa terävien sirpaleiden sinkoutumisen.

Takuu

Me Cytionilla seisomme tuotteidemme laadun ja elinkelpoisuuden takana.
Takaamme, että solumme ovat elinkelpoisia viljelyn alkaessa 60 päivän ajan sen jälkeen, kun ne on lähetetty laitoksestamme.
Vakuutamme, että kaikki materiaalit ovat analyysitodistuksessa ja/tai tuoteselosteessa kuvattujen eritelmien mukaisia
Lisätietoja on <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"""">Takuulausumassa

Aineiden siirtoa koskeva sopimus vaaditaan	Yes

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB