CMK

305533

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

CMK šūnu līnija ir cilvēka megakarioblastiskās leikēmijas modelis, kas izveidots no pacienta ar Dauna sindromu, kuram diagnosticēta akūta megakarioblastiskā leikēmija (AMKL). Šīs šūnas ir nozīmīgas pētījumos par megakariocītu diferenciāciju un leikēmiju, kas saistīta ar 21. hromosomas trisomiju. CMK šūnās ir novērojami megakariocītiem raksturīgi marķieri, piemēram, glikoproteīni GPIIb/IIIa un GPIb, kas ir trombocītu membrānu galvenās sastāvdaļas. Trombocītu peroksidāzes (PPO) aktivitāte, kas lokalizēta kodola apvalkā un endoplazmatiskajā tīklā, bet ne Golgi aparātā, apstiprina šo šūnu megakariocītisko izcelsmi. Ultrastrukturālā analīze atklāj citoplazmatisko granulu, kas līdzinās α-granulām, un demarkācijas membrānu klātbūtni, tādējādi vēl vairāk apstiprinot to megakariocītisko raksturu.
CMK šūnām raksturīgs sarežģīts kariotips, tostarp gandrīz tetraploīdija un specifiska translokācija der(17)t(11;17), kas sastopama arī pacienta sākotnējās leikēmijas šūnās. Šī ģenētiskā izmaiņa saista šūnu līniju ar pacienta slimības stāvokli, nodrošinot uzticamu modeli AMKL patogēnēzes izpētei. Turklāt CMK šūnu līnija var reaģēt uz hematopoētiskajiem augšanas faktoriem, piemēram, interleikīnu-3 (IL-3) un granulocītu-makrofāgu koloniju stimulējošo faktoru (GM-CSF), kas stimulē proliferāciju un diferenciāciju uz nobriedušākām megakariocītiskām formām. Ārstēšana ar tādiem līdzekļiem kā forbolesteris (TPA) pastiprina megakariocītu marķieru ekspresiju un izraisa morfoloģiskas izmaiņas, tostarp citoplazmas segmentāciju, kas atgādina trombocītu veidošanos. Šīs īpašības padara CMK par vērtīgu rīku megakariocītu cilts attīstības izpētei, 21. hromosomas trisomijas ietekmes uz asinsveidošanos izpētei, kā arī leikēmogēnēzes mehānismu izpētei Dauna sindromā.

Audums	Perifērās asinis
Slimība	Ar Dauna sindromu saistīta mieloīdā leikēmija

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Cilvēks
Sekss	Vīrietis
Augšanas īpašības	Atsperes
Bioloģiskās drošības līmenis	1

IDENTIFIKATORI

Atsauce

CMK (Cytion kataloga numurs 305533)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	9606
Cellosaurus	CVCL_0216

PAZĪMES UN UZŅĒMĪBA

Mutāciju profils

Mutācija: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), heterozigota; Gēnu fūzija: TP53-FXR2

APSTRĀDE UN AUDZĒŠANA

Barotne

DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 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

Inkubācijas vide	37°C, 5%CO2, mitrināta atmosfēra.

Papildinājumi

Papildināt barotni ar 20% FBS

Pārstādīšana

Savāc suspensijas šūnas 15 ml mēģenē un saudzīgi izmazgā pielipušās šūnas ar PBS bez kalcija un magnija (T25 kolbām izmanto 3-5 ml, bet T75 kolbām - 5-10 ml). Uzklājiet Accutase (1-2 ml T25 kolbām, 2,5 ml T75 kolbām), nodrošinot pilnīgu šūnu slāņa pārklājumu. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 10 minūtes. Pēc inkubācijas apvienot un centrifugēt gan suspensiju, gan pielipušās šūnas. Pēc centrifugēšanas uzmanīgi resuspendēt šūnu granulas un pārvietot šūnu suspensiju jaunās kolbās ar svaigu barotni.

Sēšanas blīvums	3–5 × 10^5/ml

Atkausēšana un kultivēšana

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.

KVALITĀTES KONTROLE UN KRIOKONSERVĀCIJA

Sterilitāte

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.
Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

Saldēšanas barotne	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Uzglabāšanas nosacījumi

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Piegādes nosacījumi

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

ZIEDOTĀJS

Donora vecums	10 mēneši
Etniskā piederība	Japāņu

JURIDISKIE JAUTĀJUMI UN DROŠĪBA

Drošības pasākumi

Plānojot uzglabāt kriokviālu šķidrā slāpeklī turpmākai atkausēšanai, obligāti jāievēro stingri drošības pasākumi. Ir nepieciešami piemēroti aizsargcimdi un apģērbs, un, pārvietojot sasaldētos paraugus uz šķidrā slāpekļa tvertni vai no tās, ir jālieto sejas maska vai aizsargbrilles. Tas jādara, lai mazinātu traumu risku, ko var radīt iespējamas kriokrioviālu eksplozijas, kas var izraisīt asu fragmentu izmešanu.

Garantija

Uzņēmumā Cytion mēs atbalstām savu produktu kvalitāti un dzīvotspēju.
Mēs garantējam, ka mūsu šūnas būs dzīvotspējīgas kultivēšanas sākumā 60 dienas pēc nosūtīšanas no mūsu ražotnēm.
Mēs nodrošinām, ka visi materiāli atbilst analīzes sertifikātā un/vai produkta lapā aprakstītajām specifikācijām
Lai iegūtu sīkāku informāciju, lūdzu, skatiet mūsu <a href=""/"/Kas mēs esam/garantija/"" hreflang=""x-default"">Garantijas paziņojumu

Nepieciešams materiālu nodošanas līgums	Yes