CMK

305533

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

Linia komórkowa CMK stanowi model ludzkiej białaczki megakarioblastycznej, wyhodowany z komórek pacjenta z zespołem Downa, u którego zdiagnozowano ostrą białaczkę megakarioblastyczną (AMKL). Komórki te mają istotne znaczenie w badaniach nad różnicowaniem megakariocytów oraz białaczką związaną z trisomią 21. Komórki CMK wykazują obecność markerów typowych dla megakariocytów, takich jak glikoproteiny GPIIb/IIIa i GPIb, które są kluczowymi składnikami błon płytek krwi. Obecność aktywności peroksydazy płytkowej (PPO), zlokalizowanej w otoczce jądrowej i retikulum endoplazmatycznym, ale nie w aparacie Golgiego, potwierdza megakariocytowe pochodzenie tych komórek. Analiza ultrastrukturalna ujawnia obecność ziarnistości cytoplazmatycznych przypominających ziarnistości α oraz błon demarkacyjnych, co dodatkowo potwierdza ich megakariocytowy charakter.
Komórki CMK charakteryzują się złożonym kariotypem, obejmującym niemal tetraploidię oraz specyficzną translokację der(17)t(11;17), obecną również w pierwotnych komórkach białaczkowych pacjenta. Ta zmiana genetyczna łączy linię komórkową ze stanem chorobowym u pacjenta, zapewniając wiarygodny model do badania patogenezy AMKL. Ponadto linia komórkowa CMK może reagować na hematopoetyczne czynniki wzrostu, takie jak interleukina-3 (IL-3) i czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF), które stymulują proliferację i różnicowanie w kierunku bardziej dojrzałych form megakariocytowych. Leczenie środkami takimi jak ester forbolowy (TPA) zwiększa ekspresję markerów megakariocytów i wywołuje zmiany morfologiczne, w tym segmentację cytoplazmatyczną przypominającą tworzenie płytek krwi. Cechy te sprawiają, że linia CMK stanowi cenne narzędzie do badania rozwoju linii megakariocytowej, wpływu trisomii 21 na hematopoezę oraz mechanizmów leukemogenezy w zespole Downa.

Chusteczka	Krew obwodowa
Choroba	Białaczka szpikowa związana z zespołem Downa

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Seks	Mężczyzna
Właściwości związane ze wzrostem	Zawieszenie
Poziom bezpieczeństwa biologicznego	1

IDENTYFIKATORY

Źródło

CMK (numer katalogowy Cytion 305533)

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_0216

EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

Profil mutacji

Mutacja: TP53, p.Asp49His (c.145G>C), heterozygotyczna; Fuzja genów: TP53-FXR2

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 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

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.

Suplementy

Uzupełnić podłoże 20% FBS

Hodowla komórek w subkulturze

Zebrać komórki zawiesiny do probówki o pojemności 15 ml i delikatnie przemyć przylegające komórki PBS pozbawionym wapnia i magnezu (użyć 3-5 ml dla kolb T25 i 5-10 ml dla kolb T75). Nałożyć Accutase (1-2 ml na kolby T25, 2,5 ml na kolby T75), zapewniając pełne pokrycie warstwy komórek. Pozostawić komórki do inkubacji w temperaturze pokojowej przez 10 minut. Po inkubacji połączyć i odwirować zarówno zawiesinę, jak i przylegające komórki. Po odwirowaniu ostrożnie zawiesić osad komórek i przenieść zawiesinę komórek do nowych kolb zawierających świeżą pożywkę.

Gęstość wysiewu	3–5 × 10^5/ml

Rozmrażanie i hodowla

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.

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.
Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Pożywka do zamrażania	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

DARCZYŃCA

Wiek dawcy	10 miesięcy
Pochodzenie etniczne	Japoński

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Wymagana umowa o transferze materiałów	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