CMK

305533

GENERAL INFORMATION

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.

Tissue	Sangue periférico
Disease	Leucemia mieloide associada à síndrome de Down

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Male
Growth properties	Suspension
Biosafety level	1

IDENTIFIERS

Citation

CMK (número de catálogo da Cytion 305533)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_0216

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Mutational profile

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

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

HANDLING AND CULTURE

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 $NaHCO_3$, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.

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, ressuspenda cuidadosamente o sedimento celular e transfira a suspensão celular para novos frascos contendo meio fresco.

Seeding density	3-5 × 10^5/ml

Thawing and culturing

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.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

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.

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.

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.

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.

DONOR

Donor age	10 meses
Ethnicity	Japonês

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Ao planejar o armazenamento de um criotubo em nitrogênio líquido para descongelamento futuro, é obrigatório seguir medidas de segurança rigorosas. É essencial o uso de luvas e roupas de proteção adequadas, além do uso obrigatório de máscara facial ou óculos de proteção durante a transferência de amostras congeladas para dentro ou para fora do tanque de nitrogênio líquido. Isso visa mitigar o risco de ferimentos decorrentes de possíveis explosões dos criotubos durante a remoção, o que pode resultar na projeção de fragmentos pontiagudos.

Warranty

Na Cytion, garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células permanecerão viáveis no início da cultura por
60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no
Certificado de Análise e/ou na Ficha Técnica do Produto.
Para obter todos os detalhes, consulte nossa
Declaração de Garantia.

Material Transfer Agreement required	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