

Клетки MEG-01 | 300482

Обща информация

Description

Клетъчната линия MEG-01 е човешка мегакариобластна клетъчна линия, създадена от костния мозък на 55-годишен пациент от мъжки пол, който е бил във фаза на мегакариобластна криза при хронична миелогенна левкемия (ХМЛ). Тази клетъчна линия е разработена през 1983 г. в Медицинския факултет на Университета в Нагоя, Япония. Пациентът, от когото е получена MEG-01, е положителен за Филадельфийската хромозома (Ph1), отличителен белег на CML. Клетките MEG-01 показват хипердиплоиден кариотип с модален брой хромозоми от 56 до 58, като постоянно показват наличието на Ph1 хромозома, която е резултат от хромозомна транслокация t(9;22).

Клетките MEG-01 имат смесени свойства на растеж, като демонстрират както адхезивни, така и суспензионни характеристики в културата. Тези клетки експресират няколко маркера и антигени, характерни за мегакариоцитната линия, включително CD41, CD61 и CDw14. Те също така са положителни за цитоплазмен фактор VIII, повърхностни GPIIb/IIIa и различни ензимни активности, като реакция на периодична киселина на Schiff (PAS), алфа-нафтилацетат естераза и киселинна фосфатаза. Интересно е, че клетките MEG-01 са отрицателни за миелопероксидаза, алфа-нафтилбутират естераза, нафтол AS-D хлорацетатна естераза и алкална фосфатаза, което спомага за разграничаването им от други миелоидни клетки.

MEG-01 е ценен модел за изучаване на човешката мегакариопоеза, производството на тромбоцити и биосинтезата на протеини, уникални за мегакариоцитната линия, като тромбоцитен растежен фактор (PDGF) и гликопротеини като GPIIb/IIIa. Благодарение на добре характеризирания си генетичен фон и способността си да експресира ключови мегакариоцитни маркери, MEG-01 служи като важен инструмент за изследване на механизмите на левкемията и биогенезата на тромбоцитите, въпреки че не е предназначен за терапевтични или *in vivo* приложения.

Organism	Човек
Tissue	Костен мозък
Disease	Хронична миелоидна левкемия
Synonyms	Meg-01, MEG01, Meg01

Характеристики

Age	55 години
Gender	Мъжки
Ethnicity	Източна Азия
Morphology	Подобни на миобласти

Клетки MEG-01 | 300482

Cell type	Мегакариобласт
------------------	----------------

Growth properties	Прилепване/суспензия
--------------------------	----------------------

Регулаторни данни

Citation	MEG-01 (каталожен номер 300482 на Cytion)
-----------------	---

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_0425
-----------------------------	-----------

Биомолекуларни данни

Antigen expression	CD41 +, CD61 +, CDw14 +
---------------------------	-------------------------

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
--------------------	-----------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Съберете суспендираните клетки в 15-милилитрова епруветка и внимателно промийте прилепналите клетки с PBS без калций и магнезий (използвайте 3-5 ml за колби T25 и 5-10 ml за колби T75). Нанесете Accutase (1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75), като се уверите, че покрива изцяло клетъчния слой. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 10 минути. След инкубацията комбинирайте и центрофугирайте суспензията и адхезивните клетки. След центрофугирането внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета и прехвърлете клетъчната суспензия в нови колби, съдържащи свежа среда.
---------------------	--

Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.
----------------------	---

Клетки MEG-01 | 300482

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки MEG-01 | 300482

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.