Product sheet

MEG-01-celler | 300482

Generel information

Description	MEG-01-cellelinjen er en human megakaryoblast-cellelinje, der er etableret fra knoglemarven hos en 55-årig mandlig patient, som var i den megakaryoblastiske krisefase af kronisk myelogen leukæmi (CML). Denne cellelinje blev udviklet i 1983 på Nagoya University School of Medicine i Japan. Den patient, som MEG-01 stammer fra, var positiv for Philadelphia-kromosomet (Ph1), som er et kendetegn for CML. MEG-01-cellerne udviser en hyperdiploid karyotype med et modalt kromosomtal på 56 til 58, hvilket konsekvent viser tilstedeværelsen af Ph1-kromosomet, som er et resultat af den kromosomale translokation t(9;22). MEG-01-celler har blandede vækstegenskaber og udviser både adhærente og suspenderede egenskaber i kultur. Disse celler udtrykker flere markører og antigener, der er karakteristiske for den megakaryocytiske linje, herunder CD41, CD61 og CDw14. De tester også positivt for cytoplasmatisk faktor VIII, overflade GPIIb/IIIa og forskellige enzymatiske aktiviteter såsom periodisk syre-Schiff (PAS)-reaktion, alfa-naphthylacetatesterase og syrephosphatase. Interessant nok er MEG-01-celler negative for myeloperoxidase, alfa-naphthylbutyratesterase, naphthol AS-D-chloracetatesterase og alkalisk fosfatase, hvilket er med til at adskille dem fra andre myeloide celler. MEG-01 har været en værdifuld model til at studere human megakaryopoiese, blodpladeproduktion og biosyntese af proteiner, der er unikke for den megakaryocytiske linje, såsom blodpladeafledt vækstfaktor (PDGF) og glykoproteiner som GPIIb/IIIa. På grund af sin velkarakteriserede genetiske baggrund og sin evne til at udtrykke vigtige megakaryocytmarkører fungerer MEG-01 som et vigtigt værktøj i undersøgelsen af leukæmi og blodpladebiogenesemekanismer, selv om det ikke er beregnet til terapeutiske eller in vivo-anvendelser.
Organism	Menneske
Tissue	Knoglemarv
Disease	Kronisk myeloid leukæmi
Synonyms	Meg-01, MEG01, Meg01

Karakteristika

Age	55 år
Gender	Mand
Ethnicity	Østasiatisk
Morphology	Myoblast-lignende
Cell type	Megakaryoblast

MEG-01-celler | 300482

Growth properties	Vedhæftning/suspension

Regulatoriske data

Citation	MEG-01 (Cytion katalognummer 300482)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0425

Biomolekylære data

Antigen expression	CD41 +, CD61 +, CDw14 +

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Saml de suspenderede celler i et 15 ml rør, og vask forsigtigt de klæbende celler med PBS uden calcium og magnesium (brug 3-5 ml til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber). Påfør Accutase (1-2 ml til T25-kolber, 2,5 ml til T75-kolber) for at sikre fuld dækning af cellelaget. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 10 minutter. Efter inkubationen kombineres og centrifugeres både suspensionen og de vedhæftede celler. Efter centrifugering resuspenderes cellepelleten forsigtigt, og cellesuspensionen overføres til nye kolber, der indeholder frisk medium.
Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, befugtet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.
Shipping Conditions	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions	For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility	Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.