Product sheet

Κύτταρα MEG-01 | 300482

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά MEG-01 είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά μεγακαρυοβλαστών που δημιουργήθηκε από τον μυελό των οστών ενός 55χρονου άνδρα ασθενούς που βρισκόταν στη φάση της μεγακαρυοβλαστικής κρίσης της χρόνιας μυελογενής λευχαιμίας (ΧΜΛ). Αυτή η κυτταρική σειρά αναπτύχθηκε το 1983 στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου της Ναγκόγια, Ιαπωνία. Ο ασθενής από τον οποίο προήλθε η MEG-01 ήταν θετικός για το χρωμόσωμα Φιλαδέλφειας (Ph1), χαρακτηριστικό γνώρισμα της ΧΜΛ. Τα κύτταρα MEG-01 παρουσιάζουν υπερδιπλοειδή καρυότυπο με μέσο αριθμό χρωμοσωμάτων 56 έως 58, παρουσιάζοντας σταθερά την παρουσία του χρωμοσώματος Ph1, το οποίο είναι αποτέλεσμα της χρωμοσωμικής μετάθεσης t(9;22). Τα κύτταρα MEG-01 έχουν μικτές ιδιότητες ανάπτυξης, παρουσιάζοντας τόσο προσκολλημένα όσο και εναιωρούμενα χαρακτηριστικά στην καλλιέργεια. Τα κύτταρα αυτά εκφράζουν διάφορους δείκτες και αντιγόνα που χαρακτηρίζουν τη μεγακαρυοκυτταρική σειρά, συμπεριλαμβανομένων των CD41, CD61 και CDw14. Είναι επίσης θετικά για κυτταροπλασματικό παράγοντα VIII, επιφανειακά GPIIb/IIIa και διάφορες ενζυματικές δραστηριότητες όπως η αντίδραση περιοδικού οξέος-Schiff (PAS), η α-ναφθυλοοξική εστεράση και η όξινη φωσφατάση. Είναι ενδιαφέρον ότι τα κύτταρα MEG-01 είναι αρνητικά για τη μυελοπεροξειδάση, την α-ναφθυλοβουτυρική εστεράση, τη χλωροοξική εστεράση της ναφθόλης AS-D και την αλκαλική φωσφατάση, γεγονός που συμβάλλει στη διάκρισή τους από άλλα μυελοειδή κύτταρα. Το MEG-01 έχει αποτελέσει πολύτιμο μοντέλο για τη μελέτη της ανθρώπινης μεγακαρυοποίησης, της παραγωγής αιμοπεταλίων και της βιοσύνθεσης πρωτεϊνών μοναδικών για τη μεγακαρυοκυτταρική σειρά, όπως ο αυξητικός παράγοντας που προέρχεται από τα αιμοπετάλια (PDGF) και γλυκοπρωτεΐνες όπως η GPIIb/IIIa. Λόγω του καλά χαρακτηρισμένου γενετικού του υποβάθρου και της ικανότητάς του να εκφράζει βασικούς δείκτες μεγακαρυοκυττάρων, το MEG-01 χρησιμεύει ως σημαντικό εργαλείο στη διερεύνηση των μηχανισμών βιογένεσης της λευχαιμίας και των αιμοπεταλίων, αν και δεν προορίζεται για θεραπευτικές ή in vivo εφαρμογές.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Μυελός των οστών
Disease	Χρόνια μυελοειδής λευχαιμία
Synonyms	Meg-01, MEG01, Meg01

Χαρακτηριστικά

Age	55 χρόνια
Gender	Άντρας
Ethnicity	Ανατολική Ασία
Morphology	Μυοβλάστες που μοιάζουν με τους μυοβλάστες

Product sheet

Κύτταρα MEG-01 | 300482

Cell type	Μεγακαρυοβλάστη
Growth properties	Προσκολλημένο/αναστολή

Ρυθμιστικά δεδομένα

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

Βιομοριακά δεδομένα

Antigen expression	CD41 +, CD61 +, CDw14 +

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Συγκεντρώστε τα εναιωρήματα σε ένα σωληνάριο των 15 ml και πλύνετε απαλά τα προσκολλημένα κύτταρα με PBS χωρίς ασβέστιο και μαγνήσιο (χρησιμοποιήστε 3-5 ml για φιάλες T25 και 5-10 ml για φιάλες T75). Εφαρμόστε Accutase (1-2 ml για φιάλες T25, 2,5 ml για φιάλες T75) εξασφαλίζοντας πλήρη κάλυψη της κυτταρικής στιβάδας. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά. Μετά την επώαση, συνδυάστε και φυγοκεντρίστε τόσο το εναιώρημα όσο και τα προσκολλημένα κύτταρα. Μετά τη φυγοκέντρηση, ανασυγκεντρώστε προσεκτικά το κυτταρικό σφαιρίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα κυττάρων σε νέες φιάλες που περιέχουν φρέσκο μέσο.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα MEG-01 | 300482

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα MEG-01 | 300482

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.