

Cellule MEG-01 | 300482

Informazioni generali

Description

La linea cellulare MEG-01 è una linea cellulare di megacarioblasti umani ottenuta dal midollo osseo di un paziente maschio di 55 anni che si trovava nella fase di crisi megacarioblastica della leucemia mieloide cronica (LMC). Questa linea cellulare è stata sviluppata nel 1983 presso la Nagoya University School of Medicine, in Giappone. Il paziente da cui è stata derivata la MEG-01 era positivo al cromosoma Philadelphia (Ph1), un segno distintivo della LMC. Le cellule MEG-01 presentano un cariotipo iperdiploide con un numero modale di cromosomi compreso tra 56 e 58, mostrando costantemente la presenza del cromosoma Ph1, risultato della traslocazione cromosomica t(9;22).

Le cellule MEG-01 hanno proprietà di crescita miste, dimostrando caratteristiche di aderenza e sospensione in coltura. Queste cellule esprimono diversi marcatori e antigeni caratteristici del lignaggio megacariocitico, tra cui CD41, CD61 e CDw14. Sono inoltre positive al Fattore VIII citoplasmatico, alla GPIIb/IIIa di superficie e a varie attività enzimatiche come la reazione periodica acido-Schiff (PAS), l'alfa naftil acetato esterasi e la fosfatasi acida. È interessante notare che le cellule MEG-01 sono negative alla mieloperossidasi, all'alfa naftilbutirrato esterasi, al naftolo AS-D cloroacetato esterasi e alla fosfatasi alcalina, il che contribuisce a distinguerle da altre cellule mieloidi.

Il MEG-01 è stato un modello prezioso per lo studio della megacariogenesi umana, della produzione di piastrine e della biosintesi di proteine esclusive del lignaggio megacariocitico, come il fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGF) e glicoproteine come la GPIIb/IIIa. Grazie al suo background genetico ben caratterizzato e alla sua capacità di esprimere marcatori megacariocitari chiave, MEG-01 è uno strumento importante per lo studio della leucemia e dei meccanismi di biogenesi piastrinica, sebbene non sia destinato ad applicazioni terapeutiche o in vivo.

Organism

Umano

Tissue

Midollo osseo

Disease

Leucemia mieloide cronica

Synonyms

Meg-01, MEG01, Meg01

Caratteristiche

Age

55 anni

Gender

Uomo

Ethnicity

Asia orientale

Morphology

Mioblastico

Cell type

Megacarioblasto

Cellule MEG-01 | 300482

Growth properties Aderente/sospeso

Dati normativi

Citation MEG-01 (numero di catalogo Cytion 300482)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0425

Dati biomolecolari

Antigen expression CD41 +, CD61 +, CDw14 +

Manipolazione

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO₃ (articolo Cytion numero 820700a)

Supplements Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Raccogliere le cellule in sospensione in una provetta da 15 ml e lavare delicatamente le cellule aderenti con PBS privo di calcio e magnesio (utilizzare 3-5 ml per le fiasche T25 e 5-10 ml per le fiasche T75). Applicare Accutase (1-2 ml per le beute T25, 2,5 ml per le beute T75) assicurando la copertura completa dello strato cellulare. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 10 minuti. Dopo l'incubazione, unire e centrifugare sia la sospensione che le cellule aderenti. Dopo la centrifugazione, risospendere accuratamente il pellet cellulare e trasferire la sospensione cellulare in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule MEG-01 | 300482

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule MEG-01 | 300482

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo STR

Amelogenin: x,y

CSF1PO: 10

D13S317: 8

D16S539: 9

D5S818: 13

D7S820: 11

TH01: 7

TPOX: 8,11

vWA: 16

D3S1358: 15

D21S11: 29

D18S51: 18,22

Penta E: 15

Penta D: 11,13

D8S1179: 14,15

FGA: 26

D6S1043: 14,15,18

D2S1338: 19

D12S391: 19

D19S433: 14,15.2