

MEG-01 Cellen | 300482

Algemene informatie

Description

De MEG-01 cellijn is een menselijke megakaryoblast cellijn afkomstig uit het beenmerg van een 55-jarige mannelijke patiënt die zich in de megakaryoblastische crisisfase van chronische myeloïde leukemie (CML) bevond. Deze cellijn werd in 1983 ontwikkeld aan de Nagoya University School of Medicine in Japan. De patiënt van wie MEG-01 werd afgeleid, was positief voor het Philadelphia-chromosoom (Ph1), een kenmerk van CML. De MEG-01 cellen vertonen een hyperdiploïd karyotype met een modaal chromosoomnummer van 56 tot 58, waarbij consequent de aanwezigheid van het Ph1 chromosoom wordt aangetoond, dat het gevolg is van de t(9;22) chromosomale translocatie.

MEG-01 cellen hebben gemengde groei-eigenschappen en vertonen zowel adherente als suspensie eigenschappen in kweek. Deze cellen brengen verschillende markers en antigenen tot expressie die kenmerkend zijn voor de megakaryocytaire lijn, waaronder CD41, CD61 en CDw14. Ze testen ook positief op cytoplasmatische Factor VIII, oppervlakte GPIIb/IIIa en verschillende enzymatische activiteiten zoals de PAS-reactie (Periodic Acid-Schiff), alfa naftylacetaatesterase en zure fosfatase. Interessant is dat MEG-01 cellen negatief zijn voor myeloperoxidase, alfa naftylbutyraat esterase, naftyl AS-D chloroacetaat esterase en alkalische fosfatase, wat helpt om ze te onderscheiden van andere myeloïde cellen.

MEG-01 is een waardevol model geweest voor het bestuderen van menselijke megakaryopoëse, de productie van bloedplaatjes en de biosynthese van eiwitten die uniek zijn voor het megakaryocytaire geslacht, zoals PDGF (platelet-derived growth factor) en glycoproteïnen zoals GPIIb/IIIa. Door zijn goed gekarakteriseerde genetische achtergrond en zijn vermogen om belangrijke megakaryocyt markers tot expressie te brengen, dient MEG-01 als een belangrijk instrument in het onderzoek naar leukemie en bloedplaatjes biogenese mechanismen, hoewel het niet bedoeld is voor therapeutische of in vivo toepassingen.

Organism

Mens

Tissue

Beenmerg

Disease

Chronische myeloïde leukemie

Synonyms

Meg-01, MEG01, Meg01

Kenmerken

Age

55 jaar

Gender

Mannelijk

Ethnicity

Oost-Aziatisch

Morphology

Myoblast-achtige

Cell type

Megakaryoblast

MEG-01 Cellen | 300482

Growth properties Hechting/suspensie

Regelgevende gegevens

Citation MEG-01 (Cytion catalogusnummer 300482)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0425

Biomoleculaire gegevens

Antigen expression CD41 +, CD61 +, CDw14 +

Omgaan met

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verzamel de suspensiecellen in een buis van 15 ml en was de aanhangende cellen voorzichtig met PBS zonder calcium en magnesium (gebruik 3-5 ml voor T25-flesjes en 5-10 ml voor T75-flesjes). Breng Accutase aan (1-2 ml voor T25-flesjes, 2,5 ml voor T75-flesjes) en zorg dat de cellaag volledig bedekt wordt. Laat de cellen 10 minuten bij kamertemperatuur incuberen. Na de incubatie zowel de suspensie als de aanhangende cellen combineren en centrifugeren. Na het centrifugeren de celpellet voorzichtig resuspenden en de celsuspensie overbrengen in nieuwe kolven met vers medium.

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

MEG-01 Cellen | 300482

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

MEG-01 Cellen | 300482

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

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