

MEG-01-celler | 300482

Generell informasjon

Description

MEG-01-cellelinjen er en human megakaryoblastcellelinje som ble etablert fra benmargen til en 55 år gammel mannlig pasient som var i den megakaryoblastiske krisefasen av kronisk myelogen leukemi (KML). Denne cellelinjen ble utviklet i 1983 ved Nagoya University School of Medicine i Japan. Pasienten som MEG-01 ble avledet fra, var positiv for Philadelphiakromosomet (Ph1), som er et kjennetegn ved KML. MEG-01-cellene har en hyperdiploid karyotype med et modalt kromosomtall på 56 til 58, og viser konsekvent tilstedeværelse av Ph1-kromosomet, som er et resultat av den kromosomale translokasjonen t(9;22).

MEG-01-celler har blandede vekstegenskaper, og viser både adherente og suspensjonsegenskaper i kultur. Disse cellene uttrykker flere markører og antigener som er karakteristiske for megakaryocytlinjen, inkludert CD41, CD61 og CDw14. De tester også positivt for cytoplasmatisk faktor VIII, GPIIb/IIIa på overflaten og ulike enzymatiske aktiviteter som periodisk syre-Schiff (PAS)-reaksjon, alfa-naftylacetatesterase og sur fosfatase. Interessant nok er MEG-01-celler negative for myeloperoksidase, alfa-naftylbutyratesterase, naftol-AS-D-kloracetatesterase og alkalisk fosfatase, noe som bidrar til å skille dem fra andre myeloide celler.

MEG-01 har vært en verdifull modell for studier av megakaryopoese, blodplateproduksjon og biosyntesen av proteiner som er unike for den megakaryocytiske linjen, som PDGF (platelet-derived growth factor) og glykoproteiner som GPIIb/IIIa. På grunn av den velkarakteriserte genetiske bakgrunnen og evnen til å uttrykke viktige megakaryocytmarkører, er MEG-01 et viktig verktøy i forskningen på leukemi og blodplatebiogenesemekanismer, selv om den ikke er beregnet på terapeutisk eller in vivo-bruk.

Organism Menneskelig

Tissue Benmarg

Disease Kronisk myeloid leukemi

Synonyms Meg-01, MEG01, Meg01

Kjennetegn

Age 55 år

Gender Mann

Ethnicity Øst-Asia

Morphology Myoblast-lignende

Cell type Megakaryoblast

MEG-01-celler | 300482

Growth properties Vedhengende/suspensjon

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 artikkelnummer 820700a)

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Samle suspensjonscellene i et 15 ml rør, og vask de adherente cellene forsiktig med PBS uten kalsium og magnesium (bruk 3-5 ml for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber). Påfør Accutase (1-2 ml for T25-kolber, 2,5 ml for T75-kolber) og sørg for full dekning av cellelaget. La cellene inkubere i romtemperatur i 10 minutter. Etter inkubasjon kombineres og sentrifugeres både suspensjonen og de adherente cellene. Etter sentrifugering resuspenderes cellepelletten forsiktig, og cellesuspensjonen overføres til nye kolber som inneholder nytt medium.

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

MEG-01-celler | 300482

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

**Freezing
Procedure**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Shipping
Conditions**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

MEG-01-celler | 300482

**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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