Product sheet

Komórki MEG-01 | 300482

Informacje ogólne

Description	Linia komórkowa MEG-01 to ludzka linia komórek megakarioblastów utworzona ze szpiku kostnego 55-letniego pacjenta, który znajdował się w fazie kryzysu megakarioblastycznego przewlekłej białaczki szpikowej (CML). Ta linia komórkowa została opracowana w 1983 roku w Nagoya University School of Medicine w Japonii. Pacjent, od którego uzyskano MEG-01, miał dodatni chromosom Philadelphia (Ph1), cechę charakterystyczną CML. Komórki MEG-01 wykazują hiperdiploidalny kariotyp z modalną liczbą chromosomów od 56 do 58, konsekwentnie wykazując obecność chromosomu Ph1, który jest wynikiem translokacji chromosomalnej t(9;22). Komórki MEG-01 mają mieszane właściwości wzrostu, wykazując zarówno cechy przylegania, jak i zawiesiny w hodowli. Komórki te wykazują ekspresję kilku markerów i antygenów charakterystycznych dla linii megakariocytów, w tym CD41, CD61 i CDw14. Wykazują również pozytywny wynik testu na obecność cytoplazmatycznego czynnika VIII, powierzchniowej GPIIb/IIIa i różnych aktywności enzymatycznych, takich jak okresowa reakcja kwas-Schiff (PAS), esteraza alfa-naftylooctanowa i kwaśna fosfataza. Co ciekawe, komórki MEG-01 są ujemne pod względem mieloperoksydazy, esterazy maślanu alfa-naftylu, esterazy chlorooctanu naftylu AS-D i fosfatazy alkalicznej, co pomaga odróżnić je od innych komórek mieloidalnych. MEG-01 był cennym modelem do badania ludzkiej megakariopoezy, produkcji płytek krwi i biosyntezy białek unikalnych dla linii megakariocytowej, takich jak płytkowy czynnik wzrostu (PDGF) i glikoproteiny, takie jak GPIIb/IIIa. Ze względu na dobrze scharakteryzowane podłoże genetyczne i zdolność do ekspresji kluczowych markerów megakariocytów, MEG-01 służy jako istotne narzędzie w badaniu białaczki i mechanizmów biogenezy płytek krwi, choć nie jest przeznaczony do zastosowań terapeutycznych ani in vivo.
Organism	Człowiek
Tissue	Szpik kostny
Disease	Przewlekła białaczka szpikowa
Synonyms	Meg-01, MEG01, Meg01

Charakterystyka

Age	55 lat
Gender	Mężczyzna
Ethnicity	Azja Wschodnia
Morphology	Podobne do mioblastów
Cell type	Megakarioblast

Komórki MEG-01 | 300482

Growth properties	Przyleganie/zawieszenie

Dane regulacyjne

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

Dane biomolekularne

Antigen expression	CD41 +, CD61 +, CDw14 +

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO3 (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Zebrać komórki zawiesiny do probówki o pojemności 15 ml i delikatnie przemyć przylegające komórki PBS pozbawionym wapnia i magnezu (użyć 3-5 ml dla kolb T25 i 5-10 ml dla kolb T75). Nałożyć Accutase (1-2 ml na kolby T25, 2,5 ml na kolby T75), zapewniając pełne pokrycie warstwy komórek. Pozostawić komórki do inkubacji w temperaturze pokojowej przez 10 minut. Po inkubacji połączyć i odwirować zarówno zawiesinę, jak i przylegające komórki. Po odwirowaniu ostrożnie zawiesić osad komórek i przenieść zawiesinę komórek do nowych kolb zawierających świeżą pożywkę.
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki MEG-01 | 300482

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.

2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.

3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.

4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.

5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.

6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.

7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.

8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki MEG-01 | 300482

Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.
Profil 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