

**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-naftyłu, esterazy chloroocetanu naftyłu AS-D i fosfatazy alkalicznej, co pomaga odróżnić je od innych komórek mieloidalnych.

MEG-01 był cennym modelem do badania ludzkiej megakariopoety, 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 lub in vivo.

<b>Organism</b>	Człowiek
<b>Tissue</b>	Szpik kostny
<b>Disease</b>	Przewlekła białaczka szpikowa
<b>Synonyms</b>	Meg-01, MEG01, Meg01

**Charakterystyka**

<b>Age</b>	55 lat
<b>Gender</b>	Mężczyzna
<b>Ethnicity</b>	Azja Wschodnia
<b>Morphology</b>	Podobne do mioblastów
<b>Cell type</b>	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 NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820700a)

**Supplements** Uzuppełnić podłoże 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Zebrać komórki zawiesiny do próbówki 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  $-150^{\circ}\text{C}$ , 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  $37^{\circ}\text{C}$  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 przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  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 zawieszonych, 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**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78^{\circ}\text{C}$  przez 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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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 / Profil genetyczny / HLA

### 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