

Células MEG-01 | 300482**Informações gerais****Description**

A linha celular MEG-01 é uma linha celular de megacarioblastos humanos estabelecida a partir da medula óssea de um doente do sexo masculino de 55 anos de idade que se encontrava na fase de crise megacarioblástica da Leucemia Mielogénica Crónica (LMC). Esta linha celular foi desenvolvida em 1983 na Faculdade de Medicina da Universidade de Nagoya, Japão. O doente do qual a MEG-01 foi derivada era positivo para o cromossoma Filadélfia (Ph1), uma característica distintiva da LMC. As células MEG-01 apresentam um cariótipo hiperdiploide com um número cromossómico modal de 56 a 58, mostrando consistentemente a presença do cromossoma Ph1, que resulta da translocação cromossómica t(9;22).

As células MEG-01 têm propriedades de crescimento mistas, demonstrando tanto características aderentes como de suspensão em cultura. Estas células expressam vários marcadores e antigénios característicos da linhagem megacariocítica, incluindo CD41, CD61 e CDw14. Também apresentam resultados positivos para o Fator VIII citoplasmático, GPIIb/IIIa de superfície e várias actividades enzimáticas, como a reação de ácido periódico de Schiff (PAS), a alfa naftil acetato esterase e a fosfatase ácida. É interessante notar que as células MEG-01 são negativas para mieloperoxidase, alfa naftil butirato esterase, naftol AS-D cloroacetato esterase e fosfatase alcalina, o que ajuda a distingui-las de outras células mieloides.

A MEG-01 tem sido um modelo valioso para estudar a megacariopoiese humana, a produção de plaquetas e a biossíntese de proteínas exclusivas da linhagem megacariocítica, como o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) e glicoproteínas como a GPIIb/IIIa. Devido ao seu fundo genético bem caracterizado e à sua capacidade de expressar marcadores chave dos megacariócitos, o MEG-01 serve como uma ferramenta importante na investigação da leucemia e dos mecanismos de biogénese plaquetária, embora não se destine a aplicações terapêuticas ou in vivo.

Organism Humano**Tissue** Medula óssea**Disease** Leucemia mieloide crónica**Synonyms** Meg-01, MEG01, Meg01**Caraterísticas****Age** 55 anos**Gender** Masculino**Ethnicity** Ásia Oriental**Morphology** Tipo mioblasto**Cell type** Megacarioblasto

Células MEG-01 | 300482

Growth properties Aderente/suspensão

Dados regulamentares

Citation MEG-01 (número de catálogo Cytion 300482)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0425

Dados biomoleculares

Antigen expression CD41 +, CD61 +, CDw14 +

Manuseamento

Culture Medium RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Reunir as células em suspensão num tubo de 15 ml e lavar suavemente as células aderentes com PBS sem cálcio e magnésio (utilizar 3-5 ml para os frascos T25 e 5-10 ml para os frascos T75). Aplicar Accutase (1-2 ml para os frascos T25, 2,5 ml para os frascos T75), assegurando a cobertura total da camada celular. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 10 minutos. Após a incubação, combinar e centrifugar tanto a suspensão como as células aderentes. Após a centrifugação, ressuspender cuidadosamente o pellet de células e transferir a suspensão de células para novos frascos com meio fresco.

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células MEG-01 | 300482

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células MEG-01 | 300482

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

Perfil 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