Product sheet

MEG-01-celler | 300482

Allmän information

Description	MEG-01-cellinjen är en human megakaryoblastcellinje som etablerats från benmärgen hos en 55-årig manlig patient som befann sig i den megakaryoblastiska krisfasen av kronisk myeloisk leukemi (KML). Denna cellinje utvecklades 1983 vid Nagoya University School of Medicine i Japan. Den patient som MEG-01 härstammar från var positiv för Philadelphiakromosomen (Ph1), ett kännetecken för KML. MEG-01-cellerna uppvisar en hyperdiploid karyotyp med ett modalt kromosomantal på 56 till 58, vilket konsekvent visar förekomsten av Ph1-kromosomen, som är ett resultat av den kromosomala translokationen t(9;22). MEG-01-cellerna har blandade tillväxtegenskaper och uppvisar både vidhäftande och suspenderade egenskaper i odling. Dessa celler uttrycker flera markörer och antigener som är karakteristiska för den megakaryocytiska linjen, inklusive CD41, CD61 och CDw14. De testar också positivt för cytoplasmisk faktor VIII, yt-GPIIb/IIIa och olika enzymatiska aktiviteter som PAS-reaktion (Periodic Acid-Schiff), alfanaftylacetatesteras och surt fosfatas. Intressant nog är MEG-01-cellerna negativa för myeloperoxidas, alfanaftylbutyratesteras, naftol AS-D kloracetatesteras och alkaliskt fosfatas, vilket bidrar till att skilja dem från andra myeloida celler. MEG-01 har varit en värdefull modell för studier av megakaryopoes, trombocytproduktion och biosyntesen av proteiner som är unika för den megakaryocytiska linjen, t.ex. trombocytderiverad tillväxtfaktor (PDGF) och glykoproteiner som GPIIb/IIIa. På grund av sin väl karakteriserade genetiska bakgrund och sin förmåga att uttrycka viktiga megakaryocytmarkörer är MEG-01 ett viktigt verktyg för att undersöka mekanismerna bakom leukemi och trombocytbiogenes, även om den inte är avsedd för terapeutiska eller in vivo-tillämpningar.
Organism	Människan
Tissue	Benmärg
Disease	Kronisk myeloisk leukemi
Synonyms	Meg-01, MEG01, Meg01

Egenskaper

Age	55 år
Gender	Man
Ethnicity	Östasien
Morphology	Myoblastliknande
Cell type	Megakaryoblast

MEG-01-celler | 300482

Growth properties	Vidhäftande/suspension

Lagstadgade uppgifter

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

Biomolekylära data

Antigen expression	CD41 +, CD61 +, CDw14 +

Hantering

Culture Medium	RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L $NaHCO_3$ (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Samla de suspenderade cellerna i ett 15 ml rör och tvätta försiktigt de vidhäftande cellerna med PBS utan kalcium och magnesium (använd 3-5 ml för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar). Applicera Accutase (1-2 ml för T25-kolvar, 2,5 ml för T75-kolvar) och se till att cellskiktet täcks helt. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 10 minuter. Efter inkubationen, kombinera och centrifugera både suspensionen och de vidhäftande cellerna. Efter centrifugering, resuspendera försiktigt cellpelleten och överför cellsuspensionen till nya kolvar med nytt medium.
Freeze medium	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolvar; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, befuktad atmosfär.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.
Shipping Conditions	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Storage Conditions	För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekylär analys

Sterility	Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.
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