Product sheet

Bunky MEG-01 | 300482

Všeobecné informácie

Description	Bunková línia MEG-01 je ľudská megakaryoblastová bunková línia vytvorená z kostnej drene 55-ročného muža, ktorý bol vo fáze megakaryoblastickej krízy chronickej myelogénnej leukémie (CML). Táto bunková línia bola vyvinutá v roku 1983 na Nagoya University School of Medicine v Japonsku. Pacient, od ktorého bola MEG-01 odvodená, bol pozitívny na chromozóm Philadelphia (Ph1), ktorý je charakteristickým znakom CML. Bunky MEG-01 vykazujú hyperdiploidný karyotyp s modálnym počtom chromozómov 56 až 58, pričom dôsledne vykazujú prítomnosť chromozómu Ph1, ktorý je výsledkom chromozomálnej translokácie t(9;22). Bunky MEG-01 majú zmiešané rastové vlastnosti a v kultúre vykazujú adherentné aj suspenzné charakteristiky. Tieto bunky exprimujú niekoľko markerov a antigénov charakteristických pre megakaryocytovú líniu vrátane CD41, CD61 a CDw14. Sú tiež pozitívne na cytoplazmatický faktor VIII, povrchové GPIIb/IIIa a rôzne enzymatické aktivity, ako je periodická kyslá Schiffova reakcia (PAS), alfa-naftylacetátesteráza a kyslá fosfatáza. Zaujímavé je, že bunky MEG-01 sú negatívne na myeloperoxidázu, alfa naftylbutyrát esterázu, naftol AS-D chloroacetát esterázu a alkalickú fosfatázu, čo ich pomáha odlíšiť od iných myeloidných buniek. MEG-01 je cenným modelom na štúdium ľudskej megakaryopoézy, produkcie krvných doštičiek a biosyntézy proteínov jedinečných pre megakaryocytovú líniu, ako je rastový faktor odvodený od krvných doštičiek (PDGF) a glykoproteíny ako GPIIb/IIIa. Vďaka dobre charakterizovanému genetickému pozadiu a schopnosti exprimovať kľúčové megakaryocytárne markery slúži MEG-01 ako významný nástroj pri skúmaní mechanizmov leukémie a biogenézy trombocytov, hoci nie je určený na terapeutické alebo in vivo aplikácie.
Organism	Ľudské
Tissue	Kostná dreň
Disease	Chronická myeloidná leukémia
Synonyms	Meg-01, MEG01, Meg01

Charakteristika

Age	55 rokov
Gender	Muži
Ethnicity	Východná Ázia
Morphology	Myoblastom podobné
Cell type	Megakaryoblast

Bunky MEG-01 | 300482

Growth properties	Priľnavosť/suspenzia

Regulačné údaje

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

Biomolekulárne údaje

Antigen expression	CD41 +, CD61 +, CDw14 +

Spracovanie

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Zhromaždite suspenzné bunky do 15 ml skúmavky a jemne premyte priľnuté bunky PBS bez vápnika a horčíka (použite 3-5 ml pre banky T25 a 5-10 ml pre banky T75). Aplikujte Accutase (1 - 2 ml pre banky T25, 2,5 ml pre banky T75), aby ste zabezpečili úplné pokrytie bunkovej vrstvy. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 10 minút. Po inkubácii spojte a odstreďte suspenziu aj adherované bunky. Po odstredení opatrne resuspendujte bunkovú peletu a preneste bunkovú suspenziu do nových baniek obsahujúcich čerstvé médium.
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells	1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota. 2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia. 3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč. 4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom. 5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte. 6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média. 7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek. 8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žiadne
Freezing Procedure	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility	Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.