Product sheet

MEG-01 rakud | 300482

Üldine teave

Description	MEG-01 rakuliin on inimese megakarüoblastide rakuliin, mis on loodud 55-aastase meessoost patsiendi luuüdist, kes oli kroonilise müelogeense leukeemia (CML) megakarüoblastilise kriisi faasis. See rakuliin töötati välja 1983. aastal Nagoya ülikooli meditsiinikooli juures Jaapanis. Patsient, kellelt MEG-01 saadi, oli positiivne Philadelphia kromosoomi (Ph1) suhtes, mis on CML-i tunnusmärk. MEG-01 rakkudel on hüperdiploidne karüotüüp, mille modaalne kromosoomide arv on 56-58, mis näitab järjekindlalt Ph1 kromosoomi olemasolu, mis on t(9;22) kromosoomi translokatsiooni tulemus. MEG-01 rakkudel on segatud kasvueelised, näidates kultuuris nii kleepuvaid kui ka suspensioonilisi omadusi. Need rakud ekspresseerivad mitmeid megakarüotsüütide liinile iseloomulikke markereid ja antigeene, sealhulgas CD41, CD61 ja CDw14. Nad on positiivsed ka VIII tsütoplasmafaktori, GPIIb/IIIa pinna ja erinevate ensüümide, nagu perioodilise happe-Schiffi reaktsioon (PAS), alfa-naftüülatsetaatsteraas ja happeline fosfataas, suhtes. Huvitaval kombel on MEG-01 rakud negatiivsed müeloperoksidaasi, alfa-naftüülbutüraatesteraasi, naftool-AS-D-kloroatsetaatesteraasi ja aluselise fosfataasi suhtes, mis aitab neid teistest müeloidrakkudest eristada. MEG-01 on olnud väärtuslik mudel inimese megakaryopoeesia, trombotsüütide tootmise ja selliste megakaryotsüütidele omaste valkude, nagu trombotsüütide kasvufaktor (PDGF) ja sellised glükoproteiinid nagu GPIIb/IIIa, biosünteesi uurimiseks. Tänu oma hästi iseloomustatud geneetilisele taustale ja võimele ekspresseerida peamisi megakarüotsüütide markereid, on MEG-01 oluline vahend leukeemia ja trombotsüütide biogeneesi mehhanismide uurimisel, kuigi see ei ole mõeldud terapeutiliseks või in vivo kasutamiseks.
Organism	Inimene
Tissue	Luuüdi
Disease	Krooniline müeloidne leukeemia
Synonyms	Meg-01, MEG01, Meg01

Omadused

Age	55 aastat
Gender	Mees
Ethnicity	Ida-Aasia
Morphology	Müoblastilaadsed
Cell type	Megakaryoblast

MEG-01 rakud | 300482

Growth properties	Kinni jääv/suspensioon

Regulatiivsed andmed

Citation	MEG-01 (Cytioni katalooginumber 300482)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0425

Biomolekulaarsed andmed

Antigen expression	CD41 +, CD61 +, CDw14 +

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Koguge suspensioonirakud 15 ml tuubi ja peske kleepunud rakud ettevaatlikult PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium (kasutage 3-5 ml T25 kolbide puhul ja 5-10 ml T75 kolbide puhul). Kandke Accutase'i (1-2 ml T25 kolvidesse, 2,5 ml T75 kolvidesse), tagades rakukihi täieliku katvuse. Laske rakkudel 10 minutit toatemperatuuril inkubeerida. Pärast inkubeerimist ühendage ja tsentrifuugige nii suspensioon kui ka adherentsed rakud. Pärast tsentrifuugimist resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult ja kandke rakususpensioon uutesse kolvidesse, mis sisaldavad värsket söötmeainet.
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp. 4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga. 5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu. 8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub
Freezing Procedure	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.