Product sheet

MEG-01-solut | 300482

Yleisiä tietoja

Description	MEG-01-solulinja on ihmisen megakaryoblastisolulinja, joka on peräisin 55-vuotiaan miespotilaan luuytimestä, joka oli kroonisen myelooisen leukemian (CML) megakaryoblastisessa kriisivaiheessa. Tämä solulinja kehitettiin vuonna 1983 Nagoyan yliopiston lääketieteellisessä tiedekunnassa Japanissa. Potilaalla, josta MEG-01 oli peräisin, oli positiivinen Philadelphia-kromosomi (Ph1), joka on CML:n tunnusmerkki. MEG-01:n soluilla on hyperdiploidinen karyotyyppi, jonka modaalinen kromosomiluku on 56-58, ja niissä esiintyy jatkuvasti Ph1-kromosomia, joka on seurausta t(9;22)-kromosomitranslokaatiosta. MEG-01:n soluilla on sekalaiset kasvuominaisuudet, ja niillä on sekä tarttuvia että suspensio-ominaisuuksia viljelyssä. Nämä solut ilmentävät useita megakaryosyyttilinjalle tyypillisiä merkkiaineita ja antigeenejä, kuten CD41, CD61 ja CDw14. Ne ovat myös positiivisia sytoplasmisen VIII-tekijän, pinta-GPIIb/IIIa:n ja erilaisten entsymaattisten aktiivisuuksien, kuten PAS-reaktion (periodic acid-Schiff), alfa-naftyyliasetaattiesteraasin ja happaman fosfataasin suhteen. Mielenkiintoista on, että MEG-01-solut ovat negatiivisia myeloperoksidaasin, alfa-naftyylibutyraattiesteraasin, naftoli-AS-D-klooriasetaattiesteraasin ja emäksisen fosfataasin suhteen, mikä auttaa erottamaan ne muista myelooisista soluista. MEG-01 on ollut arvokas malli tutkittaessa ihmisen megakaryopoieesia, verihiutaleiden tuotantoa ja megakaryosyyttilinjalle ominaisten proteiinien, kuten verihiutaleista peräisin olevan kasvutekijän (PDGF) ja glykoproteiinien, kuten GPIIb/IIIa:n, biosynteesiä. Koska MEG-01:n geneettinen tausta on hyvin karakterisoitu ja se kykenee ilmentämään keskeisiä megakaryosyyttien merkkiaineita, se toimii merkittävänä välineenä leukemian ja verihiutaleiden biogeneesimekanismien tutkimisessa, vaikka sitä ei ole tarkoitettu terapeuttisiin tai in vivo -sovelluksiin.
Organism	Ihminen
Tissue	Luuydin
Disease	Krooninen myelooinen leukemia
Synonyms	Meg-01, MEG01, Meg01

Ominaisuudet

Age	55 vuotta
Gender	Mies
Ethnicity	Itä-Aasia
Morphology	Myoblastin kaltaiset
Cell type	Megakaryoblastit

MEG-01-solut | 300482

Growth properties	Tarttuva/riippuvainen

Sääntelytiedot

Citation	MEG-01 (Cytionin luettelonumero 300482)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0425

Biomolekyylitiedot

Antigen expression	CD41 +, CD61 +, CDw14 +, CDw14 +

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Kerää suspensiosolut 15 ml:n putkeen ja pese kiinni olevat solut varovasti PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia (3-5 ml T25-pulloissa ja 5-10 ml T75-pulloissa). Levitä Accutasea (1-2 ml T25-pulloihin, 2,5 ml T75-pulloihin) varmistaen, että solukerros peittyy kokonaan. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 10 minuuttia. Inkuboinnin jälkeen yhdistetään ja sentrifugoidaan sekä suspensio että adherentit solut. Sentrifugoinnin jälkeen solupelletti suspendoidaan varovasti uudelleen ja siirretään solususpensio uusiin pulloihin, jotka sisältävät tuoretta väliaineita.
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.

2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.

3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.

4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.

5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.

6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.

7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.

8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.