Product sheet

MEG-01 ląstelės | 300482

Bendra informacija

Description	MEG-01 ląstelių linija yra žmogaus megakarioblastų ląstelių linija, sukurta iš 55 metų vyro, kuriam buvo lėtinės mielozinės leukemijos (LML) megakarioblastinės krizės fazė, kaulų čiulpų. Ši ląstelių linija buvo sukurta 1983 m. Nagojos universiteto Medicinos mokykloje (Japonija). Pacientui, iš kurio buvo gauta MEG-01, buvo nustatyta teigiama Filadelfijos chromosoma (Ph1), būdingoji CML požymis. MEG-01 ląstelės pasižymi hiperdiploidiniu kariotipu, kurio modalinis chromosomų skaičius yra 56-58, ir nuolat rodo, kad jose yra Ph1 chromosoma, atsiradusi dėl t(9;22) chromosominės translokacijos. MEG-01 ląstelės pasižymi mišriomis augimo savybėmis, kultūroje jos yra ir adherentinės, ir suspensinės. Šios ląstelės išreiškia keletą megakariocitinei linijai būdingų žymenų ir antigenų, įskaitant CD41, CD61 ir CDw14. Jų citoplazminis VIII faktorius, paviršiaus GPIIb/IIIa ir įvairios fermentinės veiklos, pavyzdžiui, periodinės rūgšties-Schiffo (PAS) reakcijos, alfa naftilacetato esterazės ir rūgštinės fosfatazės, testai taip pat teigiami. Įdomu tai, kad MEG-01 ląstelių mieloperooksidazės, alfa naftilo butirato esterazės, naftolio AS-D chloroacetato esterazės ir šarminės fosfatazės rodikliai yra neigiami, o tai padeda jas atskirti nuo kitų mieloidinių ląstelių. MEG-01 yra vertingas modelis tiriant žmogaus megakariopoezę, trombocitų gamybą ir megakariocitinei linijai būdingų baltymų, tokių kaip trombocitų augimo faktorius (PDGF) ir glikoproteinai, pavyzdžiui, GPIIb/IIIa, biosintezę. Dėl gerai apibūdinto genetinio pagrindo ir gebėjimo išreikšti pagrindinius megakariocitų žymenis MEG-01 yra svarbus leukemijos ir trombocitų biogenezės mechanizmų tyrimo įrankis, nors jis nėra skirtas gydymui ar in vivo taikymui.
Organism	Žmogus
Tissue	Kaulų čiulpai
Disease	Lėtinė mieloidinė leukemija
Synonyms	Meg-01, MEG01, Meg01

Charakteristikos

Age	55 metai
Gender	Vyras
Ethnicity	Rytų Azijos
Morphology	Į mioblastus panašus
Cell type	Megakarioblastai

MEG-01 ląstelės | 300482

Growth properties	Prigludęs / suspenduotas

Reguliavimo duomenys

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

Biomolekuliniai duomenys

Antigen expression	CD41 +, CD61 +, CDw14 +

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Surinkite ląstelių suspensiją į 15 ml mėgintuvėlį ir švelniai nuplaukite prilipusias ląsteles PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio (naudokite 3-5 ml T25 kolboms ir 5-10 ml T75 kolboms). Užtepkite "Accutase" (1-2 ml T25 kolboms, 2,5 ml T75 kolboms), kad visiškai padengtumėte ląstelių sluoksnį. Leiskite ląstelėms 10 minučių inkubuotis kambario temperatūroje. Po inkubacijos sumaišykite ir centrifuguokite suspensiją ir prilipusias ląsteles. Po centrifugavimo atsargiai resuspenduokite ląstelių granules ir perkelkite ląstelių suspensiją į naujas kolbas su šviežia terpe.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

MEG-01 ląstelės | 300482

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra
Freezing Procedure	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.