Product sheet

MEG-01 šūnas | 300482

Vispārīga informācija

Description	MEG-01 šūnu līnija ir cilvēka megakarioblastu šūnu līnija, kas iegūta no 55 gadus veca vīrieša kaulu smadzenēm, kurš bija hroniskas mielogēnās leikēmijas (HML) megakarioblastiskās krīzes fāzē. Šī šūnu līnija tika izstrādāta 1983. gadā Nagojas Universitātes Medicīnas skolā, Japānā. Pacientam, no kura tika iegūta MEG-01, bija pozitīva Filadelfijas hromosoma (Ph1), kas ir KML pazīme. MEG-01 šūnām ir hiperdiploīdais kariotips ar modālo hromosomu skaitu no 56 līdz 58, kas konsekventi liecina par Ph1 hromosomas klātbūtni, kas ir t(9;22) hromosomu translokācijas rezultāts. MEG-01 šūnām piemīt jauktas augšanas īpašības, kultūrā tām piemīt gan adhēzijas, gan suspensijas īpašības. Šīs šūnas ekspresē vairākus megakariocītu līnijai raksturīgus marķierus un antigēnus, tostarp CD41, CD61 un CDw14. Tās ir pozitīvas arī attiecībā uz citoplazmas VIII faktoru, virsmas GPIIb/IIIa un dažādām enzīmu aktivitātēm, piemēram, periodisko skābes-Šifa (PAS) reakciju, alfa naftilacetāta esterāzi un skābo fosfatāzi. Interesanti, ka MEG-01 šūnām ir negatīvs mieloperoksidāzes, alfa naftilbutirāta esterāzes, naftol AS-D hloracetāta esterāzes un sārmainās fosfatāzes noteikšanas rezultāts, kas palīdz tās atšķirt no citām mieloīdām šūnām. MEG-01 ir bijis vērtīgs modelis cilvēka megakariopoēzes, trombocītu veidošanās un megakariocītu līnijai raksturīgo olbaltumvielu, piemēram, trombocītu izcelsmes augšanas faktora (PDGF) un tādu glikoproteīnu kā GPIIb/IIIa, biosintēzes pētījumiem. Pateicoties labi raksturotajam ģenētiskajam fonam un spējai ekspresēt galvenos megakariocītu marķierus, MEG-01 kalpo kā nozīmīgs līdzeklis leikēmijas un trombocītu biogēnozes mehānismu izpētei, lai gan tas nav paredzēts terapeitiskiem vai in vivo lietojumiem.
Organism	Cilvēks
Tissue	Kaulu smadzenes
Disease	Hroniska mieloīdo leikēmija
Synonyms	Meg-01, MEG01, Meg01

Raksturojums

Age	55 gadi
Gender	Vīrieši
Ethnicity	Austrumāzijas
Morphology	Mioblastiem līdzīgs
Cell type	Megakarioblasts

MEG-01 šūnas | 300482

Growth properties	Pielipšana/suspensija

Normatīvie dati

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

Biomolekulārie dati

Antigen expression	CD41 +, CD61 +, CDw14 +

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Savāc suspensijas šūnas 15 ml mēģenē un saudzīgi izmazgā pielipušās šūnas ar PBS bez kalcija un magnija (T25 kolbām izmanto 3-5 ml, bet T75 kolbām - 5-10 ml). Uzklājiet Accutase (1-2 ml T25 kolbām, 2,5 ml T75 kolbām), nodrošinot pilnīgu šūnu slāņa pārklājumu. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 10 minūtes. Pēc inkubācijas apvienot un centrifugēt gan suspensiju, gan pielipušās šūnas. Pēc centrifugēšanas uzmanīgi resuspendēt šūnu granulas un pārvietot šūnu suspensiju jaunās kolbās ar svaigu barotni.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus. 7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu. 8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.