

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 leukēmijas (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 leukēmijas un trombocītu biogēnozes mehānismu izpētei, lai gan tas nav paredzēts terapeitiskiem vai in vivo lietojumiem.

Organism

Cilvēks

Tissue

Kaulu smadzenes

Disease

Hroniska mieloīdo leukēmija

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.

MEG-01 šūnas | 300482

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% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

MEG-01 šūnas | 300482

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums 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 slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.