

Клетки M-07e | 305105

Обща информация

Description

Клетъчната линия M-07e е подлиния, получена от оригиналната човешка левкемична клетъчна линия M-07, която е създадена от периферната кръв на 6-месечно момиче с диагноза остра мегакариобластна левкемия (AML M7). Тази конкретна подлиния е изолирана, за да се създаде факторно-зависима клетъчна линия, която изисква интерлевкин-3 (IL-3) или гранулоцитен макрофагов колонистимулиращ фактор (GM-CSF) за растеж, дори в присъствието на фетален телешки серум. Клетките на M-07e показват силна пролиферация в отговор на различни цитокини, включително GM-CSF, интерферони (IFN-alpha, IFN-beta, IFN-gamma), IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-15, фактор за растеж на нервите (NGF), фактор на стволовите клетки (SCF), тумор некротизиращ фактор-alpha (TNF-alpha) и тромбоектин (TPO). Въпреки това, зависимостта им от IL-3 или GM-CSF за устойчив растеж ги прави ценен инструмент в биопробите, предназначени за измерване на биологичната активност на тези специфични цитокини.

Клетките M-07e са изключително чувствителни към IL-3 и GM-CSF, което ги прави идеални за използване в анализи, при които откриването на ниски нива на тези цитокини е от решаващо значение. Например биологичните тестове, използващи клетки M-07e, могат да открият само 25-50 pg/ml IL-3 или GM-CSF, което ги прави сравними или дори по-чувствителни от традиционните тестове като CFU-GM или CML blast proliferation assays. Клетъчната линия обаче има тенденция да става цитокин-независима в рамките на 3-4 седмици в културата, вероятно поради разрастването на цитокин-независими субпопулации, което предполага, че е необходимо внимателно наблюдение при използването на тези клетки за дългосрочни проучвания. Наличието на данни за екзома и РНК секвенцията допълнително повишава полезността на клетките M-07e в изследванията, насочени към левкемията и хематопоезата.

Клетките M-07e са използвани и за създаване на количествен биологичен тест за GM-CSF и IL-3, което е от съществено значение както в клинични, така и в изследователски условия. Биопробата, разработена с тази клетъчна линия, се оказва удобна, надеждна и чувствителна, което я прави особено полезна за оценка на фармакологичните ефекти на терапиите с хемопоетични растежни фактори. Детайлната реакция на клетките M-07e към различни цитокини, съчетана с добре документираните им характеристики на растеж, подчертава стойността им в експерименталната хематология, особено в изследванията, свързани с левкемията и терапевтичното приложение на цитокини.

Organism	Човек
Tissue	Периферна кръв
Disease	Остра мегакариобластна левкемия в детска възраст
Synonyms	M-07E, M-07e, M07-e, M07e, Mo7e, MO7e, M07E, MO7E

Характеристики

Age	6 месеца
Gender	Жена

Клетки М-07е | 305105

Ethnicity	Европейски
Morphology	Лимфобласт
Growth properties	Окачване

Регулаторни данни

Citation	М-07е (каталожен номер 305105 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2106

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с топлинно инактивиран 15% FBS, GM-CSF (10 ng/ml), добавете 2,5 g/L глюкоза и 10 mM HEPES
Doubling time	40 до 46 часа
Subculturing	Нежно хомогенизирайте клетъчната суспензия в колбата чрез пипетиране нагоре и надолу, след което вземете представителна проба, за да определите клетъчната плътност на мл. Разрежете суспензията, за да постигнете клетъчна концентрация от $0,5 \times 10^6$ клетки/мл с прясна културална среда, и разпределете коригираната суспензия в нови колби за по-нататъшно култивиране.
Fluid renewal	На всеки 2 дни
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки M-07e | 305105

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки M-07e | 305105

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.