

Buňky M-07e | 305105

Obecné informace

Description

Buněčná linie M-07e je sublinie odvozená z původní lidské leukemické buněčné linie M-07, která byla vytvořena z periferní krve šestiměsíční dívky s diagnózou akutní megakaryoblastické leukemie (AML M7). Tato konkrétní podlinie byla izolována za účelem vytvoření buněčné linie závislé na faktorech, která pro svůj růst vyžaduje interleukin-3 (IL-3) nebo faktor stimulující kolonie granulocytárních makrofágů (GM-CSF), a to i v přítomnosti fetálního telecího séra. Buňky M-07e vykazují silnou proliferaci v reakci na různé cytokiny, včetně GM-CSF, interferonů (IFN-alfa, IFN-beta, IFN-gama), IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-15, nervového růstového faktoru (NGF), faktoru kmenových buněk (SCF), tumor nekrotizujícího faktoru alfa (TNF-alfa) a trombopoietinu (TPO). Jejich závislost na IL-3 nebo GM-CSF pro trvalý růst z nich však činí cenný nástroj v biologických testech určených k měření biologické aktivity těchto specifických cytokinů.

Buňky M-07e jsou vysoce citlivé na IL-3 a GM-CSF, takže jsou ideální pro použití v testech, kde je rozhodující detekce nízkých hladin těchto cytokinů. Například biologické testy využívající buňky M-07e mohou detekovat pouhých 25-50 pg/ml IL-3 nebo GM-CSF, takže jsou srovnatelné nebo dokonce citlivější než tradiční testy, jako jsou testy CFU-GM nebo testy proliferace blastů CML. Buněčná linie má však tendenci stát se během 3-4 týdnů v kultuře nezávislou na cytokinech, pravděpodobně v důsledku přerůstání subpopulací nezávislých na cytokinech, což naznačuje, že při použití těchto buněk pro dlouhodobé studie je nutné pečlivé sledování. Dostupnost údajů o exomu a sekvenci RNA dále zvyšuje užitečnost buněk M-07e ve výzkumu zaměřeném na leukemii a krvetvorbu.

Buňky M-07e byly také použity k vytvoření kvantitativního biologického testu pro GM-CSF a IL-3, který je nezbytný jak v klinickém, tak ve výzkumném prostředí. Biologický test vyvinutý s touto buněčnou linií se ukázal jako vhodný, spolehlivý a citlivý, takže je zvláště užitečný pro hodnocení farmakologických účinků terapií hematopoetickými růstovými faktory. Podrobná reaktivita buněk M-07e na různé cytokiny v kombinaci s jejich dobře zdokumentovanými růstovými vlastnostmi podtrhuje jejich hodnotu v experimentální hematologii, zejména ve studiích týkajících se leukémie a terapeutické aplikace cytokinů.

Organism

Člověk

Tissue

Periferní krev

Disease

Dětská akutní megakaryoblastická leukémie

Synonyms

M-07E, M-07e, M07-e, M07e, Mo7e, MO7e, M07E, MO7E

Charakteristika

Age

6 měsíců

Gender

Ženy

Ethnicity

Evropská

Buňky M-07e | 305105

Morphology Lymfoblasty**Growth properties** Zavěšení

Regulační údaje

Citation M-07e (katalogové číslo Cytion 305105)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2106

Biomolekulární data

Zpracování

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplněte médium tepelně aktivovaným 15% FBS, GM-CSF (10 ng/ml), přidejte 2,5 g/l glukózy a 10 mM HEPES**Doubling time** 40 až 46 hodin**Subculturing** Jemně homogenizujte buněčnou suspenzi v baňce pipetováním nahoru a dolů, poté odeberte reprezentativní vzorek k určení buněčné hustoty na ml. Suspenzi zředte čerstvým kultivačním médiem tak, aby byla dosažena koncentrace buněk $0,5 \times 10^6$ buněk/ml, a upravenou suspenzi rozdělte do nových baněk pro další kultivaci.**Split ratio** 1:2 až 1:3**Fluid renewal** Každé 2 dny**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky M-07e | 305105

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.**Flask Coating**

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky M-07e | 305105

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.