

M-07e-celler | 305105**Generel information****Description**

M-07e-cellelinjen er en sublinje, der stammer fra den oprindelige humane leukæmicellelinje M-07, som blev etableret fra perifert blod fra en 6 måneder gammel pige, der blev diagnosticeret med akut megakaryoblastisk leukæmi (AML M7). Denne særlige sublinje blev isoleret for at skabe en faktoraafhængig cellelinje, der kræver interleukin-3 (IL-3) eller granulocyt-makrofag-kolonistimulerende faktor (GM-CSF) for at vokse, selv i nærvær af føtalt kalveserum. M-07e-celler udviser robust spredning som reaktion på en række cytokiner, herunder GM-CSF, interferoner (IFN-alfa, IFN-beta, IFN-gamma), IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-15, nervevækstfaktor (NGF), stamcellefaktor (SCF), tumornekrosefaktor-alfa (TNF-alfa) og thrombopoietin (TPO). Men deres afhængighed af IL-3 eller GM-CSF for vedvarende vækst gør dem til et værdifuldt værktøj i bioassays, der er designet til at måle den biologiske aktivitet af disse specifikke cytokiner.

Især er M-07e-celler meget følsomme over for IL-3 og GM-CSF, hvilket gør dem ideelle til brug i analyser, hvor det er afgørende at kunne påvise lave niveauer af disse cytokiner. For eksempel kan bioassays med M-07e-celler påvise så lidt som 25-50 pg/mL IL-3 eller GM-CSF, hvilket gør dem sammenlignelige med eller endda mere følsomme end traditionelle assays som CFU-GM eller CML blast proliferation assays. Cellelinjen har dog en tendens til at blive cytokin-uafhængig inden for 3-4 uger i kultur, sandsynligvis på grund af væksten af cytokin-uafhængige subpopulationer, hvilket tyder på, at omhyggelig overvågning er nødvendig, når man bruger disse celler til langtidsstudier. Tilgængeligheden af exom- og RNA-sekvensdata øger yderligere anvendeligheden af M-07e-celler i forskning med fokus på leukæmi og hæmatopoiesis.

M-07e-celler er også blevet brugt til at etablere et kvantitativt bioassay for GM-CSF og IL-3, hvilket er vigtigt i både kliniske og forskningsmæssige sammenhænge. Det bioassay, der er udviklet med denne cellelinje, har vist sig at være praktisk, pålideligt og følsomt, hvilket gør det særligt nyttigt til vurdering af de farmakologiske virkninger af hæmatopoietiske vækstfaktorbehandlinger. M-07e-cellernes detaljerede respons på forskellige cytokiner kombineret med deres veldokumenterede vækstegenskaber understreger deres værdi i eksperimentel hæmatologi, især i undersøgelser relateret til leukæmi og den terapeutiske anvendelse af cytokiner.

Organism

Menneske

Tissue

Perifert blod

Disease

Akut megakaryoblastisk leukæmi hos børn

Synonyms

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

Karakteristika**Age**

6 måneder

Gender

Kvinde

Ethnicity

Europæisk

M-07e-celler | 305105

Morphology Lymfoblast**Growth properties** Ophængning

Regulatoriske data

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

Biomolekylære data

Håndtering

Culture Medium RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med varmeinaktiveret 15 % FBS, GM-CSF (10 ng/mL), tilsæt 2,5 g/L glukose og 10 mM HEPES**Doubling time** 40 til 46 timer**Subculturing** Homogeniser forsigtigt celsuspensionen i kolben ved at pipettere op og ned, og tag derefter en repræsentativ prøve for at bestemme celletætheden pr. ml. Fortynd suspensionen til en cellekoncentration på $0,5 \times 10^6$ celler/ml med frisk dyrkningsmedium, og fordel den justerede suspension i nye kolber til videre dyrkning.**Fluid renewal** Hver anden dag**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

M-07e-celler | 305105

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

M-07e-celler | 305105

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.