

M-07e rakud | 305105

Üldine teave

Description

M-07e rakuliin on alamliin, mis on saadud algsest M-07 inimese leukeemiarakuliinist, mis loodi 6 kuu vanuse tüdrukuga perifeersest verest, kellel oli diagnoositud äge megakaryoblastiline leukeemia (AML M7). See konkreetne alamliin isoleeriti, et luua faktorist sõltuv rakuliin, mis vajab kasvuks interleukiin-3 (IL-3) või granulotsüütide makrofaagikolooniaid stimuleerivat faktorit (GM-CSF), isegi loote vasikaseerumi juuresolekul. M-07e rakud näitavad tugevat proliferatsiooni vastusena erinevatele tsütokiinidele, sealhulgas GM-CSF, interferoonid (IFN-alfa, IFN-beeta, IFN-gamma), IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-15, närvi kasvufaktor (NGF), tüvirakufaktor (SCF), tuumornekroosifaktor-alfa (TNF-alfa) ja trombopoietiin (TPO). Nende sõltuvus IL-3-st või GM-CSF-st muudab nad siiski väärtuslikuks vahendiks biotestides, mis on kavandatud nende konkreetsete tsütokiinide bioloogilise aktiivsuse mõõtmiseks.

Eelkõige on M-07e rakud väga tundlikud IL-3 ja GM-CSF suhtes, mistõttu on nad ideaalsed katsetes, kus nende tsütokiinide madalate tasemete tuvastamine on oluline. Näiteks võivad M-07e rakke kasutada biotestid tuvastada vaid 25-50 pg/ml IL-3 või GM-CSF-i, mis teeb need võrreldavaks või isegi tundlikumaks kui traditsioonilised testid, nagu CFU-GM või CML blasti proliferatsiooni testid. Siiski on rakuliinil kalduvus muutuda tsütokiinist sõltumatuks 3-4 nädala jooksul kultuuris, mis on tõenäoliselt tingitud tsütokiinist sõltumatute alampopulatsioonide väljakasvamisest, mis viitab sellele, et nende rakkude kasutamisel pikaajalistes uuringutes on vajalik hoolikas jälgimine. Eksoomi ja RNA järjestuse andmete kättesaadavus suurendab veelgi M-07e rakkude kasulikkust leukeemia ja hematopoesia uurimisel.

M-07e rakke on kasutatud ka GM-CSF-i ja IL-3 kvantitatiivse biotesti tegemiseks, mis on oluline nii kliinilises kui ka teadustöös. Selle rakuliiniga välja töötatud biotest on osutunud mugavaks, usaldusväärseks ja tundlikuks, mistõttu on see eriti kasulik vereloome kasvufaktorite farmakoloogilise toime hindamiseks. M-07e rakkude üksikasjalik reageerimine erinevatele tsütokiinidele koos nende hästi dokumenteeritud kasvuomadustega rõhutab nende väärtust eksperimentaalses hematoloogias, eriti leukeemia ja tsütokiinide terapeutilise rakendamise seotud uuringutes.

Organism Inimene

Tissue Perifeerne veri

Disease Lapseea äge megakarüoblastiline leukeemia

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

Omadused

Age 6 kuud

Gender Naised

Ethnicity Euroopa

M-07e rakud | 305105

Morphology Lümfoblastid

Growth properties Peatamine

Regulatiivsed andmed

Citation M-07e (Cytioni katalooginumber 305105)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2106

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)

Supplements Täiendatakse keskkonda kuumtöödeldud 15% FBS-iga, GM-CSF-iga (10 ng/ml), lisatakse 2,5 g/l glükoosi ja 10 mM HEPES'i

Doubling time 40-46 tundi

Subculturing Homogeniseerige kolvis olev rakususpensioon õrnalt pipeteerides üles-alla, seejärel võtke representatiivne proov, et määrata rakkude tihedus ml kohta. Lahjendage suspensiooni värske kasvatuskeskkonda, et saavutada rakkude kontsentratsioon $0,5 \times 10^6$ rakku/ml, ja jaotage reguleeritud suspensioon uute kolvide vahel edasiseks kasvatamiseks.

Fluid renewal Iga 2 päeva tagant

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

M-07e rakud | 305105

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekekkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

M-07e rakud | 305105

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.