

M-07e Kennot | 305105

Yleisiä tietoja

Description

M-07e-solulinja on alalinja, joka on johdettu alkuperäisestä M-07-ihmisen leukemiasolulinjasta, joka on peräisin akuuttia megakaryoblastileukemiaa (AML M7) sairastavan 6 kuukauden ikäisen tytön perifeerisestä verestä. Tämä erityinen alalinja eristettiin, jotta voitiin luoda tekijäriippuvainen solulinja, joka vaatii kasvuun interleukiini-3:a (IL-3) tai granulositytti-makrofagikolonioita stimuloivaa tekijää (GM-CSF), jopa vasikan sikiöseerumin läsnä ollessa. M-07e-solut lisääntyvät voimakkaasti vasteena useille sytokiineille, kuten GM-CSF:lle, interferoneille (IFN-alfa, IFN-beeta, IFN-gamma), IL-2:lle, IL-3:lle, IL-4:lle, IL-6:lle, IL-15:lle, hermokasvutekijälle (NGF), kantasolutekijälle (SCF), kasvainneuroositekijä-alfalle (TNF-alfa) ja trombopoietiinille (TPO). Niiden riippuvuus IL-3:sta tai GM-CSF:stä niiden kasvun ylläpitämiseksi tekee niistä kuitenkin arvokkaan välineen biotesteissä, joiden tarkoituksena on mitata näiden erityisten sytokiinin biologista aktiivisuutta.

Erityisesti M-07e-solut ovat erittäin herkkiä IL-3:lle ja GM-CSF:lle, joten ne soveltuvat erinomaisesti käytettäviksi määrityksissä, joissa näiden sytokiinin pienten pitoisuuksien havaitseminen on tärkeää. Esimerkiksi M-07e-soluja käyttävissä biomäärityksissä voidaan havaita vain 25-50 pg/ml IL-3:a tai GM-CSF:ää, mikä tekee niistä vertailukelpoisia tai jopa herkempiä kuin perinteiset määritykset, kuten CFU-GM- tai CML-blastin proliferaatiomääritykset. Solulinjalla on kuitenkin taipumus muuttua sytokiiniiriippumattomaksi 3-4 viikon kuluessa viljelyssä, mikä johtuu todennäköisesti sytokiiniiriippumattomien osapopulaatioiden kasvusta, mikä viittaa siihen, että huolellinen seuranta on tarpeen, kun näitä soluja käytetään pitkäaikaisissa tutkimuksissa. Eksomi- ja RNA-sekvenssitietojen saatavuus lisää entisestään M-07e-solujen käyttökelpoisuutta leukemiaan ja hematopoieesiin keskittyvässä tutkimuksessa.

M-07e-soluja on myös käytetty GM-CSF:n ja IL-3:n kvantitatiivisen biomäärityksen laatimiseen, mikä on tärkeää sekä kliinisissä että tutkimusympäristöissä. Tällä solulinjalla kehitetty biomääritys on osoittautunut käteväksi, luotettavaksi ja herkäksi, minkä vuoksi se on erityisen hyödyllinen hematopoieettisten kasvutekijähoitojen farmakologisten vaikutusten arvioinnissa. M-07e-solujen yksityiskohtainen reagoitakyky eri sytokiineihin yhdistettynä niiden hyvin dokumentoituihin kasvuominaisuuksiin korostaa niiden arvoa kokeellisessa hematologiassa, erityisesti leukemiaan ja sytokiinin terapeuttiseen käyttöön liittyvissä tutkimuksissa.

Organism Ihminen**Tissue** Perifeerinen veri**Disease** Lapsuuden akuutti megakaryoblastinen leukemia**Synonyms** M-07E, M-07e, M07-e, M07e, Mo7e, MO7e, M07E, M07E, M07E

Ominaisuudet

Age 6 kuukautta**Gender** Nainen**Ethnicity** Eurooppalainen

M-07e Kennot | 305105

Morphology Lymfoblastit**Growth properties** Jousitus

Säätelytiedot

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

Biomolekyylitiedot

Käsittely

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Täydennetään väliaine lämpöinaktivoidulla 15 %:lla FBS:llä, GM-CSF:llä (10 ng/ml), lisätään 2,5 g/l glukoosia ja 10 mM HEPES:ää**Doubling time** 40-46 tuntia**Subculturing** Homogenoi solususpensio varovasti pullossa pipetoimalla ylös ja alas, ota sitten edustava näyte solutiheyden määrittämiseksi millilitrassa. Laimenna suspensio tuoreella viljelyalustalla solupitoisuudeksi $0,5 \times 10^6$ solua/ml ja jaa säädetty suspensio uusiin pulloihin jatkokäsittelyä varten.**Fluid renewal** 2 päivän välein**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

M-07e Kennot | 305105

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

M-07e Kennot | 305105

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.