

M-07e šūnas | 305105

Vispārīga informācija

Description

M-07e šūnu līnija ir apakšlīnija, kas atvasināta no oriģinālās cilvēka leukēmisko šūnu līnijas M-07, kura tika izveidota no 6 mēnešus vecas meitenes, kurai diagnosticēta akūta megakarioblastiskā leukēmija (AML M7), perifērajām asinīm. Šī konkrētā apakšlīnija tika izolēta, lai izveidotu no faktoriem atkarīgu šūnu līniju, kuras augšanai nepieciešams interleikīns-3 (IL-3) vai granuloцитu makrofāgu koloniju stimulējošais faktors (GM-CSF), pat ja tiek lietots augļa teļa serums. M-07e šūnas uzrāda spēcīgu proliferāciju, reaģējot uz dažādiem citokīniem, tostarp GM-CSF, interferoniem (IFN-alfa, IFN-beta, IFN-gamma), IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-15, nervu augšanas faktoru (NGF), cilmes šūnu faktoru (SCF), audzēja nekrozes faktoru alfa (TNF-alfa) un trombopoetīnu (TPO). Tomēr to atkarība no IL-3 vai GM-CSF, lai nodrošinātu ilgstošu augšanu, padara tos par vērtīgu līdzekli bioloģiskajos testos, kas paredzēti šo specifisko citokīnu bioloģiskās aktivitātes mērīšanai.

M-07e šūnas ir ļoti jutīgas pret IL-3 un GM-CSF, tāpēc tās ir ideāli piemērotas izmantošanai analīzēs, kurās ir svarīgi noteikt zemu šo citokīnu līmeni. Piemēram, biotestos, kuros izmanto M-07e šūnas, var noteikt tikai 25-50 pg/ml IL-3 vai GM-CSF, tādējādi tie ir salīdzināmi vai pat jutīgāki nekā tradicionālie testi, piemēram, CFU-GM vai CML blast proliferācijas testi. Tomēr šūnu līnijai ir tendence kļūt no citokīniem neatkarīgai 3-4 nedēļu laikā kultūrā, iespējams, no citokīniem neatkarīgu subpopulāciju izaugšanas dēļ, kas liecina, ka, izmantojot šīs šūnas ilgtermiņa pētījumos, ir nepieciešama rūpīga uzraudzība. Eksoma un RNS sekvenču datu pieejamība vēl vairāk palielina M-07e šūnu lietderību leukēmijas un hematopoēzes pētījumos.

M-07e šūnas ir izmantotas arī, lai noteiktu GM-CSF un IL-3 kvantitatīvu bioloģisko testu, kas ir būtiski gan klīniskajā, gan pētniecības jomā. Ar šo šūnu līniju izstrādātā bioloģiskā pārbaude ir izrādījusies ērta, uzticama un jutīga, tāpēc tā ir īpaši noderīga, lai novērtētu hematopoētisko augšanas faktoru terapijas farmakoloģisko iedarbību. Detalizētā M-07e šūnu reakcija uz dažādiem citokīniem apvienojumā ar to labi dokumentētajām augšanas īpašībām uzsver to vērtību eksperimentālajā hematoloģijā, jo īpaši pētījumos, kas saistīti ar leukēmiju un citokīnu terapeitisko izmantošanu.

Organism

Cilvēks

Tissue

Perifērās asinis

Disease

Akūta megakarioblastiskā leukēmija bērnībā

Synonyms

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

Raksturojums

Age

6 mēneši

Gender

Sievietes

Ethnicity

Eiropas

Morphology

Limfoblasts

M-07e šūnas | 305105

Growth properties

Apturēšana

Normatīvie dati

Citation

M-07e (Cytion kataloga numurs 305105)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_2106

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)

Supplements

Papildiniet barotni ar termiski inaktivētu 15% FBS, GM-CSF (10 ng/ml), pievienojiet 2,5 g/l glikozes un 10 mM HEPES

Doubling time

40 līdz 46 stundas

Subculturing

Viegli homogenizējiet šūnu suspensiju kolbā, pipetējot uz augšu un uz leju, pēc tam ņemiet reprezentatīvu paraugu, lai noteiktu šūnu blīvumu uz ml. Atšķaidiet suspensiju, lai sasniegtu šūnu koncentrāciju $0,5 \times 10^6$ šūnas/ml ar svaigu kultūras barotni, un sadaliet pielāgoto suspensiju jaunās kolbās turpmākai kultivēšanai.

Fluid renewal

Ik pēc 2 dienām

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

M-07e šūnas | 305105**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnēsāt vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

M-07e šūnas | 305105

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.