

M-07e Cellen | 305105**Algemene informatie****Description**

De M-07e cellijn is een sublijn die is afgeleid van de oorspronkelijke M-07 humane leukemische cellijn, die werd gemaakt uit het perifere bloed van een 6 maanden oud meisje met de diagnose acute megakaryoblastische leukemie (AML M7). Deze specifieke sublijn werd geïsoleerd om een factor-afhankelijke cellijn te creëren die interleukine-3 (IL-3) of granulocyt macrofaagkoloniestimulerende factor (GM-CSF) nodig heeft voor groei, zelfs in aanwezigheid van foetaal kalfsserum. M-07e cellen vertonen een robuuste proliferatie in reactie op verschillende cytokinen, waaronder GM-CSF, interferonen (IFN-alfa, IFN-beta, IFN-gamma), IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-15, zenuwgroefactor (NGF), stamcelfactor (SCF), tumornecrosefactor-alfa (TNF-alfa) en trombopoëetine (TPO). Hun afhankelijkheid van IL-3 of GM-CSF voor aanhoudende groei maakt ze echter tot een waardevol instrument in bioassays die zijn ontworpen om de biologische activiteit van deze specifieke cytokines te meten.

M-07e cellen zijn met name zeer gevoelig voor IL-3 en GM-CSF, waardoor ze ideaal zijn voor gebruik in assays waarbij het detecteren van lage niveaus van deze cytokines cruciaal is. Zo kunnen bioassays met M-07e cellen slechts 25-50 pg/mL IL-3 of GM-CSF detecteren, waardoor ze vergelijkbaar zijn met of zelfs gevoeliger zijn dan traditionele assays zoals de CFU-GM of CML blast proliferation assays. De cellijn heeft echter de neiging om binnen 3-4 weken in kweek cytokine-onafhankelijk te worden, waarschijnlijk door de uitgroei van cytokine-onafhankelijke subpopulaties. De beschikbaarheid van exoom- en RNA-sequentiegegevens vergroot de bruikbaarheid van M-07e cellen in onderzoek gericht op leukemie en hematopoëse.

M-07e cellen zijn ook gebruikt om een kwantitatieve bioassay voor GM-CSF en IL-3 te ontwikkelen, wat essentieel is in zowel klinische als onderzoeksomgevingen. De bioassay die met deze cellijn is ontwikkeld, is handig, betrouwbaar en gevoelig gebleken, waardoor deze bijzonder nuttig is voor het beoordelen van de farmacologische effecten van therapieën met hematopoëtische groeifactoren. De gedetailleerde respons van M-07e cellen op verschillende cytokines, gecombineerd met hun goed gedocumenteerde groeikenmerken, onderstreept hun waarde in experimentele hematologie, met name in studies met betrekking tot leukemie en de therapeutische toepassing van cytokines.

Organism

Mens

Tissue

Perifeer bloed

Disease

Acute megakaryoblastaire leukemie bij kinderen

Synonyms

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

Kenmerken**Age**

6 maanden

Gender

Vrouw

Ethnicity

Europese

M-07e Cellen | 305105

Morphology Lymfoblast**Growth properties** Ophanging

Regelgevende gegevens

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

Biomoleculaire gegevens

Omgaan met

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Vul het medium aan met hitte-geïnactiveerde 15% FBS, GM-CSF (10 ng/mL), voeg 2,5 g/L glucose en 10 mM HEPES toe**Doubling time** 40 tot 46 uur**Subculturing** Homogeniseer de celsuspensie in de kolf voorzichtig door op en neer te pipetteren en neem vervolgens een representatief monster om de celdichtheid per ml te bepalen. Verdun de suspensie tot een celconcentratie van $0,5 \times 10^6$ cellen/ml met vers kweekmedium en verdeel de aangepaste suspensie in nieuwe kolven voor verdere kweek.**Split ratio** 1:2 tot 1:3**Fluid renewal** Om de 2 dagen**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

M-07e Cellen | 305105

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

M-07e Cellen | 305105

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.