

M-07e Celler | 305105

Generell informasjon

Description

M-07e-cellelinjen er en sublinje avledet fra den opprinnelige humane leukemicellelinjen M-07, som ble etablert fra perifert blod fra en 6 måneder gammel jente som ble diagnostisert med akutt megakaryoblastisk leukemi (AML M7). Denne spesielle sublinjen ble isolert for å skape en faktoravhengig cellelinje som krever interleukin-3 (IL-3) eller granulocyttmakrofag kolonistimulerende faktor (GM-CSF) for å vokse, selv i nærvær av kalvefosterserum. M-07e-celler viser robust proliferasjon som respons på en rekke cytokiner, inkludert GM-CSF, interferoner (IFN-alfa, IFN-beta, IFN-gamma), IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-15, nervevektfaktor (NGF), stamcellefaktor (SCF), tumornekrosefaktor-alfa (TNF-alfa) og trombopoietin (TPO). Men fordi de er avhengige av IL-3 eller GM-CSF for å opprettholde veksten, er de et verdifullt verktøy i bioassays som er utviklet for å måle den biologiske aktiviteten til disse spesifikke cytokinene.

M-07e-celler er svært følsomme for IL-3 og GM-CSF, noe som gjør dem ideelle til bruk i analyser der det er avgjørende å påvise lave nivåer av disse cytokinene. For eksempel kan bioanalyser med M-07e-celler påvise så lite som 25-50 pg/ml IL-3 eller GM-CSF, noe som gjør dem sammenlignbare med eller til og med mer følsomme enn tradisjonelle analyser som CFU-GM- eller CML-blastproliferasjonsanalyser. Cellelinjen har imidlertid en tendens til å bli cytokinuavhengig i løpet av 3-4 uker i kultur, noe som sannsynligvis skyldes at cytokinuavhengige subpopulasjoner vokser ut, noe som tyder på at det er nødvendig med nøye overvåking når disse cellene skal brukes i langtidsstudier. Tilgangen på eksom- og RNA-sekvensdata gjør M-07e-cellene enda mer anvendelige i forskning på leukemi og hematopoese.

M-07e-celler har også blitt brukt til å etablere et kvantitativt bioassay for GM-CSF og IL-3, noe som er viktig i både kliniske og forskningsmessige sammenhenger. Bioassayet som er utviklet med denne cellelinjen, har vist seg å være praktisk, pålitelig og sensitiv, noe som gjør det spesielt nyttig for å vurdere de farmakologiske effektene av hematopoetiske vekstfaktorbehandlinger. M-07e-cellenes respons på ulike cytokiner, kombinert med deres veldokumenterte vekstegenskaper, understreker deres verdi i eksperimentell hematologi, spesielt i studier knyttet til leukemi og terapeutisk bruk av cytokiner.

Organism

Menneskelig

Tissue

Perifert blod

Disease

Akutt megakaryoblastisk leukemi hos barn

Synonyms

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

Kjennetegn

Age

6 måneder

Gender

Kvinne

Ethnicity

Europeisk

M-07e Celler | 305105

Morphology Lymfoblast

Growth properties Oppheng

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 artikkelnummer 820700a)

Supplements Suppler mediet med varmeinaktivert 15 % FBS, GM-CSF (10 ng/mL), tilsett 2,5 g/L glukose og 10 mM HEPES

Doubling time 40 til 46 timer

Subculturing Homogeniser cellesuspensjonen i kolben forsiktig ved å pipettere opp og ned, og ta deretter en representativ prøve for å bestemme celledettheten per ml. Fortynn suspensjonen til en cellekonsentrasjon på $0,5 \times 10^6$ celler/ml med ferskt dyrkningsmedium, og fordel den justerte suspensjonen i nye kolber for videre dyrking.

Split ratio 1:2 til 1:3

Fluid renewal Annenhver dag

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

M-07e Celler | 305105

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

M-07e Celler | 305105

**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.