

Ogniwa M-07e | 305105**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa M-07e jest podlinią pochodzącą z oryginalnej ludzkiej białaczkowej linii komórkowej M-07, która została utworzona z krwi obwodowej 6-miesięcznej dziewczynki, u której zdiagnozowano ostrą białaczkę megakarioblastyczną (AML M7). Ta konkretna podlinia została wyizolowana w celu stworzenia linii komórkowej zależnej od czynnika, która wymaga interleukiny-3 (IL-3) lub czynnika stymulującego kolonie granulocytów makrofagów (GM-CSF) do wzrostu, nawet w obecności płodowej surowicy cielęcej. Komórki M-07e wykazują silną proliferację w odpowiedzi na różne cytokiny, w tym GM-CSF, interferony (IFN-alfa, IFN-beta, IFN-gamma), IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-15, czynnik wzrostu nerwów (NGF), czynnik komórek macierzystych (SCF), czynnik martwicy nowotworów alfa (TNF-alfa) i trombopoetynę (TPO). Jednak ich zależność od IL-3 lub GM-CSF dla trwałego wzrostu czyni je cennym narzędziem w testach biologicznych zaprojektowanych do pomiaru aktywności biologicznej tych specyficznych cytokin.

Warto zauważyć, że komórki M-07e są bardzo wrażliwe na IL-3 i GM-CSF, co czyni je idealnymi do stosowania w testach, w których kluczowe znaczenie ma wykrywanie niskich poziomów tych cytokin. Na przykład, testy biologiczne wykorzystujące komórki M-07e mogą wykryć zaledwie 25-50 pg/mL IL-3 lub GM-CSF, co czyni je porównywalnymi lub nawet bardziej czułymi niż tradycyjne testy, takie jak CFU-GM lub testy proliferacji blastów CML. Jednak linia komórkowa ma tendencję do uniezależniania się od cytokin w ciągu 3-4 tygodni w hodowli, prawdopodobnie z powodu wzrostu subpopulacji niezależnych od cytokin, co sugeruje, że konieczne jest uważne monitorowanie przy stosowaniu tych komórek do badań długoterminowych. Dostępność danych dotyczących sekwencji egzomu i RNA dodatkowo zwiększa użyteczność komórek M-07e w badaniach nad białaczką i hematopoezą.

Komórki M-07e zostały również wykorzystane do ustanowienia ilościowego testu biologicznego dla GM-CSF i IL-3, który jest niezbędny zarówno w warunkach klinicznych, jak i badawczych. Test biologiczny opracowany przy użyciu tej linii komórkowej okazał się wygodny, niezawodny i czuły, dzięki czemu jest szczególnie przydatny do oceny efektów farmakologicznych terapii hematopoetycznymi czynnikami wzrostu. Szczegółowa reaktywność komórek M-07e na różne cytokiny, w połączeniu z ich dobrze udokumentowaną charakterystyką wzrostu, podkreśla ich wartość w hematologii eksperymentalnej, szczególnie w badaniach związanych z białaczką i terapeutycznym zastosowaniem cytokin.

Organism

Człowiek

Tissue

Krew obwodowa

Disease

Ostra białaczka megakarioblastyczna u dzieci

Synonyms

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

Charakterystyka**Age**

6 miesięcy

Gender

Kobieta

Ogniwa M-07e | 305105

Ethnicity	Europejski
------------------	------------

Morphology	Limfoblast
-------------------	------------

Growth properties	Zawieszenie
--------------------------	-------------

Dane regulacyjne

Citation	M-07e (numer katalogowy Cytion 305105)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_2106
-----------------------------	-----------

Dane biomolekularne

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Uzupełnić pożywkę inaktywowanym termicznie 15% FBS, GM-CSF (10 ng/ml), dodać 2,5 g/l glukozy i 10 mM HEPES
--------------------	--

Doubling time	40 do 46 godzin
----------------------	-----------------

Subculturing	Delikatnie homogenizować zawiesinę komórek w kolbie, pipetując w górę i w dół, a następnie pobrać reprezentatywną próbkę w celu określenia gęstości komórek na ml. Rozcieńczyć zawiesinę świeżą pożywką hodowlaną, aby uzyskać stężenie komórek wynoszące $0,5 \times 10^6$ komórek/ml, a następnie podzielić dostosowaną zawiesinę na porcje w nowych kolbach w celu dalszej hodowli.
---------------------	--

Split ratio	1:2 do 1:3
--------------------	------------

Fluid renewal	Co 2 dni
----------------------	----------

Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.
----------------------	---

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

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Ogniwa M-07e | 305105

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.