

Células M-07e | 305105**Informações gerais****Description**

A linha celular M-07e é uma sub-linha derivada da linha celular leucêmica humana M-07 original, que foi estabelecida a partir do sangue periférico de uma menina de 6 meses de idade diagnosticada com leucemia megacarioblástica aguda (AML M7). Esta sub-linha específica foi isolada para criar uma linha celular dependente de factores que requer interleucina-3 (IL-3) ou fator estimulador de colónias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) para crescer, mesmo na presença de soro fetal de vitelo. As células M-07e exibem uma proliferação robusta em resposta a uma variedade de citocinas, incluindo GM-CSF, interferões (IFN-alfa, IFN-beta, IFN-gama), IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-15, fator de crescimento dos nervos (NGF), fator de células estaminais (SCF), fator de necrose tumoral-alfa (TNF-alfa) e trombopoietina (TPO). No entanto, a sua dependência de IL-3 ou GM-CSF para um crescimento sustentado torna-as uma ferramenta valiosa em bioensaios concebidos para medir a atividade biológica destas citocinas específicas.

Nomeadamente, as células M-07e são altamente sensíveis à IL-3 e ao GM-CSF, o que as torna ideais para utilização em ensaios em que a deteção de níveis baixos destas citocinas é crucial. Por exemplo, os bioensaios que utilizam células M-07e podem detetar apenas 25-50 pg/mL de IL-3 ou GM-CSF, o que os torna comparáveis ou mesmo mais sensíveis do que os ensaios tradicionais, como os ensaios de proliferação de blastos CFU-GM ou CML. No entanto, a linha celular tem tendência para se tornar independente de citocinas no espaço de 3-4 semanas em cultura, provavelmente devido ao crescimento de subpopulações independentes de citocinas, o que sugere que é necessária uma monitorização cuidadosa quando se utilizam estas células para estudos a longo prazo. A disponibilidade de dados sobre o exoma e a sequência de ARN aumenta ainda mais a utilidade das células M-07e na investigação centrada na leucemia e na hematopoiese.

As células M-07e também foram utilizadas para estabelecer um bioensaio quantitativo para GM-CSF e IL-3, o que é essencial tanto em contextos clínicos como de investigação. O bioensaio desenvolvido com esta linha celular provou ser conveniente, fiável e sensível, o que o torna particularmente útil para avaliar os efeitos farmacológicos das terapias com factores de crescimento hematopoiético. A reatividade detalhada das células M-07e a várias citocinas, combinada com as suas características de crescimento bem documentadas, sublinha o seu valor em hematologia experimental, particularmente em estudos relacionados com a leucemia e a aplicação terapêutica de citocinas.

Organism

Humano

Tissue

Sangue periférico

Disease

Leucemia megacarioblástica aguda infantil

Synonyms

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

Caraterísticas**Age**

6 meses

Gender

Feminino

Células M-07e | 305105**Ethnicity** Europeu**Morphology** Linfoblasto**Growth properties** Suspensão**Dados regulamentares****Citation** M-07e (número de catálogo Cytion 305105)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2106**Dados biomoleculares****Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Suplementar o meio com 15% de FBS inativado pelo calor, GM-CSF (10 ng/mL), adicionar 2,5 g/L de glucose e 10 mM de HEPES**Doubling time** 40 a 46 horas**Subculturing** Homogeneize suavemente a suspensão celular no frasco pipetando para cima e para baixo e, em seguida, recolha uma amostra representativa para determinar a densidade celular por ml. Dilua a suspensão para atingir uma concentração celular de $0,5 \times 10^6$ células/ml com meio de cultura fresco e alique a suspensão ajustada em novos frascos para cultivo adicional.**Split ratio** 1:2 a 1:3**Fluid renewal** A cada 2 dias**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

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

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO₂, atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

**Freezing
Procedure**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células M-07e | 305105

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.