

Bunky M-07e | 305105**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia M-07e je sublínia odvodená od pôvodnej ľudskej leukemickej bunkovej línie M-07, ktorá bola vytvorená z periférnej krvi 6-mesačného dievčatka s diagnózou akútnej megakaryoblastickej leukémie (AML M7). Táto konkrétna sublínia bola izolovaná s cieľom vytvoriť bunkovú líniu závislú od faktorov, ktorá na svoj rast vyžaduje interleukín-3 (IL-3) alebo faktor stimulujúci kolónie granulocytových makrofágov (GM-CSF), a to aj v prítomnosti fetálneho telacieho séra. Bunky M-07e vykazujú silnú proliferáciu v reakcii na rôzne cytokíny vrátane GM-CSF, interferónov (IFN-alfa, IFN-beta, IFN-gama), IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-15, nervového rastového faktora (NGF), faktora kmeňových buniek (SCF), tumor nekrotizujúceho faktora alfa (TNF-alfa) a trombopoetínu (TPO). Ich závislosť od IL-3 alebo GM-CSF pre trvalý rast z nich však robí cenný nástroj v biologických testoch určených na meranie biologickej aktivity týchto špecifických cytokínov.

Bunky M-07e sú vysoko citlivé na IL-3 a GM-CSF, čo ich robí ideálnymi na použitie v testoch, kde je rozhodujúce zisťovanie nízkych hladín týchto cytokínov. Napríklad biologické testy využívajúce bunky M-07e môžu detegovať len 25-50 pg/ml IL-3 alebo GM-CSF, čím sú porovnateľné alebo dokonca citlivejšie ako tradičné testy, ako sú testy CFU-GM alebo testy proliferácie CML blastov. Bunková línia má však tendenciu stať sa v priebehu 3 - 4 týždňov v kultúre nezávislou od cytokínov, pravdepodobne v dôsledku prerastania subpopulácií nezávislých od cytokínov, čo naznačuje, že pri používaní týchto buniek na dlhodobé štúdie je potrebné starostlivé monitorovanie. Dostupnosť údajov o exóme a sekvencii RNA ďalej zvyšuje využiteľnosť buniek M-07e vo výskume zameranom na leukémiu a krvotvorbu.

Bunky M-07e sa tiež použili na vytvorenie kvantitatívneho biologického testu GM-CSF a IL-3, ktorý je nevyhnutný v klinických aj výskumných podmienkach. Biologický test vyvinutý s touto bunkovou líniou sa ukázal ako vhodný, spoľahlivý a citlivý, vďaka čomu je obzvlášť užitočný na hodnotenie farmakologických účinkov terapií hematopoetickými rastovými faktormi. Podrobná reakcia buniek M-07e na rôzne cytokíny spolu s ich dobre zdokumentovanými rastovými vlastnosťami zdôrazňuje ich hodnotu v experimentálnej hematológii, najmä v štúdiách týkajúcich sa leukémie a terapeutického použitia cytokínov.

Organism

Ľudské

Tissue

Periférna krv

Disease

Detská akútna megakaryoblastická leukémia

Synonyms

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

Charakteristika**Age**

6 mesiacov

Gender

Ženy

Ethnicity

Európska

Bunky M-07e | 305105**Morphology** Lymfoblast**Growth properties** Pozastavenie**Regulačné údaje****Citation** M-07e (katalógové číslo Cytion 305105)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2106**Biomolekulárne údaje****Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplníte médium tepelne aktivovaným 15% FBS, GM-CSF (10 ng/ml), pridajte 2,5 g/l glukózy a 10 mM HEPES**Doubling time** 40 až 46 hodín**Subculturing** Jemne homogenizujte bunkovú suspenziu v banke pipetovaním hore a dole, potom odoberte reprezentatívnu vzorku na stanovenie hustoty buniek na ml. Suspenziu zriedte čerstvým kultivačným médiom, aby ste dosiahli koncentráciu buniek $0,5 \times 10^6$ buniek/ml, a upravenú suspenziu rozdeľte do nových baniek na ďalšie kultivovanie.**Fluid renewal** Každé 2 dni**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky M-07e | 305105

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky M-07e | 305105

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.