

Клетки M2-10B4 | 400428

Обща информация

Description

Клетъчната линия M2-10B4 е клонинг, получен от стромални клетки от костен мозък на мишка (C57BL/6J X C3H/HeJ)F1. Тези стромални клетки са основни компоненти на микросредата на костния мозък и играят важна роля в поддържането на хемопоезата. Клетките M2-10B4 са особено ценни за изследвания, насочени към взаимодействието между стромалните и хемопоетичните клетки, тъй като те могат да поддържат както човешката, така и мишата миелопоеза в дългосрочна култура. Освен това тези клетки могат да поддържат определени миши стромални клетки, зависими от пре-В клетъчни линии *in vitro*, което ги прави универсален инструмент в хематopoетичните изследвания.

Клетките M2-10B4 експресират важни компоненти на извънклетъчния матрикс като ламинин и колаген IV, които допринасят за способността им да поддържат хемопоетични клетки. Те обаче не експресират колаген I или фактор VIII, което ги отличава от други стромални клетъчни линии. Наличието на ламинин и колаген IV е от решаващо значение за поддържането на микросредата на костния мозък, като оказва влияние върху клетъчната адхезия, диференциацията и сигналните пътища. Изследователите често използват клетъчната линия M2-10B4 в системи за съвместно култивиране, за да изследват ефектите на стромалните клетки върху поведението на хемопоетичните прогенитори, особено в контекста на физиологията на костния мозък и моделите на заболявания.

Като се имат предвид техният произход и функционални свойства, клетките M2-10B4 са основен модел за изучаване на нишата на костния мозък, особено във връзка с хематологични заболявания като левкемия. Те са също така полезни при скрининга на лекарства и разработването на терапевтични стратегии, насочени към микросредата на костния мозък.

Organism Мишка

Tissue Костен мозък

Synonyms M210B4

Характеристики

Breed/Subspecies C57BL/6J x C3H/HeJ

Age Неуточнено

Gender Жена

Morphology Подобни на фибробласти

Cell type Фибробласти

Growth properties Придържащи се

Клетки M2-10B4 | 400428

Регулаторни данни

Citation	M2-10B4 (каталожен номер 400428 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5794

Биомолекулярни данни

Products	Ламинин, колаген IV (колаген I(-), фактор VIII(-).
-----------------	--

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	1×10^4 клетки/cm ²
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	Жизнеспособността може да е ниска след размразяване.

Клетки M2-10B4 | 400428

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Клетки M2-10B4 | 400428

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.