

Buňky M2-10B4 | 400428**Obecné informace****Description**

Buněčná linie M2-10B4 je klon odvozený ze stromálních buněk kostní dřeně myši (C57BL/6J X C3H/HeJ)F1. Tyto stromální buňky jsou základními složkami mikroprostředí kostní dřeně a hrají významnou roli v podpoře krvetvorby. Buňky M2-10B4 jsou zvláště cenné pro výzkum zaměřený na interakce mezi stromálními a hematopoetickými buňkami, protože mohou podporovat lidskou i myší myelopoézu v dlouhodobé kultuře. Kromě toho mohou tyto buňky udržovat určité linie pre-B buněk závislé na myších stromálních buňkách in vitro, což z nich činí univerzální nástroj pro výzkum krvetvorby.

Buňky M2-10B4 exprimují důležité složky extracelulární matrix, jako je laminin a kolagen IV, které přispívají k jejich schopnosti podporovat hematopoetické buňky. Neexprimují však kolagen I ani faktor VIII, což je odlišuje od jiných linií stromálních buněk. Přítomnost lamininu a kolagenu IV je rozhodující pro udržení mikroprostředí kostní dřeně, ovlivňuje buněčnou adhezi, diferenciaci a signální dráhy. Výzkumníci často využívají buněčnou linii M2-10B4 v kokultivačních systémech ke zkoumání vlivu stromálních buněk na chování hematopoetických progenitorů, zejména v kontextu fyziologie kostní dřeně a modelů onemocnění.

Vzhledem ke svému původu a funkčním vlastnostem jsou buňky M2-10B4 základním modelem pro studium niky kostní dřeně, zejména ve vztahu k hematologickým onemocněním, jako je leukémie. Jsou také užitečné při screeningu léčiv a vývoji terapeutických strategií zaměřených na mikroprostředí kostní dřeně.

Organism Myš**Tissue** Kostní dřeň**Synonyms** M210B4**Charakteristika****Breed/Subspecies** C57BL/6J x C3H/HeJ**Age** Nespecifikováno**Gender** Ženy**Morphology** Fibroblastům podobné**Cell type** Fibroblasty**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje**

Buňky M2-10B4 | 400428**Citation** M2-10B4 (katalogové číslo Cytion 400428)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5794**Biomolekulární data****Products** Laminin, kolagen IV (kolagen I(-), faktor VIII(-)).**Zpracování****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:4 až 1:6**Seeding density** 1×10^4 buněk/cm²**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Post-Thaw Recovery** Životaschopnost může být po rozmrazení nízká.**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryem.

Buňky M2-10B4 | 400428

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky M2-10B4 | 400428

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.