

M2-10B4-Zellen | 400428**Allgemeine Informationen****Description**

Die M2-10B4-Zelllinie ist ein Klon, der aus Stromazellen des Knochenmarks einer (C57BL/6J X C3H/HeJ)F1-Maus gewonnen wurde. Diese Stromazellen sind wesentliche Bestandteile der Mikroumgebung des Knochenmarks und spielen eine wichtige Rolle bei der Unterstützung der Hämatopoese. Die M2-10B4-Zellen sind besonders wertvoll für die Erforschung der Wechselwirkungen zwischen Stromazellen und hämatopoetischen Zellen, da sie sowohl die menschliche als auch die murine Myelopoese in Langzeitkultur unterstützen können. Darüber hinaus können diese Zellen bestimmte murine stromazellabhängige Prä-B-Zelllinien in vitro aufrechterhalten, was sie zu einem vielseitigen Werkzeug in der hämatopoetischen Forschung macht.

Die M2-10B4-Zellen exprimieren wichtige extrazelluläre Matrixkomponenten wie Laminin und Kollagen IV, die zu ihrer Fähigkeit beitragen, hämatopoetische Zellen zu unterstützen. Allerdings exprimieren sie weder Kollagen I noch Faktor VIII, was sie von anderen Stromazelllinien unterscheidet. Das Vorhandensein von Laminin und Kollagen IV ist entscheidend für die Aufrechterhaltung der Mikroumgebung des Knochenmarks und beeinflusst die Zelladhäsion, die Differenzierung und die Signalwege. Forscher verwenden die M2-10B4-Zelllinie häufig in Co-Kultur-Systemen, um die Auswirkungen von Stromazellen auf das Verhalten hämatopoetischer Vorläuferzellen zu untersuchen, insbesondere im Zusammenhang mit der Physiologie des Knochenmarks und Krankheitsmodellen.

Aufgrund ihres Ursprungs und ihrer funktionellen Eigenschaften sind M2-10B4-Zellen ein wichtiges Modell für die Untersuchung der Knochenmarksnische, insbesondere im Zusammenhang mit hämatologischen Erkrankungen wie Leukämie. Sie sind auch nützlich für das Screening von Medikamenten und die Entwicklung von therapeutischen Strategien, die auf die Mikroumgebung des Knochenmarks abzielen.

Organism

Maus

Tissue

Knochenmark

Synonyms

M210B4

Merkmale**Breed/Subspecies**

C57BL/6J x C3H/HeJ

Age

Nicht spezifiziert

Gender

Weiblich

Morphology

Fibroblastenähnlich

Cell type

Fibroblasten

Growth properties

Adhärent

M2-10B4-Zellen | 400428**Regulatorische Daten****Citation** M2-10B4 (Cytion Katalognummer 400428)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5794**Biomolekulare Daten****Products** Laminin, Kollagen IV (Kollagen I(-), Faktor VIII(-)).**Handhabung****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820700a)**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Split ratio Es wird ein Verhältnis von 1:4 bis 1:6 empfohlen**Seeding density** 1×10^4 Zellen/cm²**Fluid renewal** 2 bis 3 Mal pro Woche**Post-Thaw Recovery** Die Lebensfähigkeit kann nach dem Auftauen gering sein.

M2-10B4-Zellen | 400428

Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

M2-10B4-Zellen | 400428

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.