

## Κύτταρα M2-10B4 | 400428

## Γενικές πληροφορίες

## Description

Η κυτταρική σειρά M2-10B4 είναι ένας κλώνος που προέρχεται από στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών από ποντίκι (C57BL/6J X C3H/HeJ) F1. Τα εν λόγω στρωματικά κύτταρα είναι ουσιώδη συστατικά του μικροπεριβάλλοντος του μυελού των οστών και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην υποστήριξη της αιμοποίησης. Τα κύτταρα M2-10B4 είναι ιδιαίτερα πολύτιμα για την έρευνα που επικεντρώνεται στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ στρωματικών και αιμοποιητικών κυττάρων, καθώς μπορούν να υποστηρίξουν τόσο την ανθρώπινη όσο και τη μυελοποίηση ποντικού σε μακροχρόνια καλλιέργεια. Επιπλέον, τα κύτταρα αυτά μπορούν να συντηρήσουν ορισμένες σειρές προ-B κυττάρων in vitro που εξαρτώνται από στρωματικά κύτταρα ποντικού, καθιστώντας τα ένα ευέλικτο εργαλείο στην αιμοποιητική έρευνα.

Τα κύτταρα M2-10B4 εκφράζουν σημαντικά συστατικά της εξωκυτταρικής μήτρας, όπως η λαμινίνη και το κολλαγόνο IV, τα οποία συμβάλλουν στην ικανότητά τους να υποστηρίζουν αιμοποιητικά κύτταρα. Ωστόσο, δεν εκφράζουν κολλαγόνο I ή παράγοντα VIII, γεγονός που τα διακρίνει από άλλες σειρές στρωματικών κυττάρων. Η παρουσία λαμινίνης και κολλαγόνου IV είναι κρίσιμη για τη διατήρηση του μικροπεριβάλλοντος του μυελού των οστών, επηρεάζοντας την κυτταρική προσκόλληση, τη διαφοροποίηση και τα μονοπάτια σηματοδότησης. Οι ερευνητές χρησιμοποιούν συχνά την κυτταρική σειρά M2-10B4 σε συστήματα συγκαλλιέργειας για να διερευνήσουν τις επιδράσεις των στρωματικών κυττάρων στη συμπεριφορά των αιμοποιητικών προγονικών κυττάρων, ιδίως στο πλαίσιο της φυσιολογίας του μυελού των οστών και των μοντέλων ασθενειών.

Δεδομένης της προέλευσης και των λειτουργικών ιδιοτήτων τους, τα κύτταρα M2-10B4 αποτελούν βασικό μοντέλο για τη μελέτη της θέσης του μυελού των οστών, ιδίως σε σχέση με αιματολογικές διαταραχές όπως η λευχαιμία. Είναι επίσης χρήσιμα στον έλεγχο φαρμάκων και στην ανάπτυξη θεραπευτικών στρατηγικών που στοχεύουν στο μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών.

**Organism** Ποντίκι

**Tissue** Μυελός των οστών

**Synonyms** M210B4

## Χαρακτηριστικά

**Breed/Subspecies** C57BL/6J x C3H/HeJ

**Age** Απροσδιόριστο

**Gender** Γυναίκα

**Morphology** Ινοβλάστες που μοιάζουν με ινοβλάστες

**Cell type** Ινοβλάστες

## Κύτταρα M2-10B4 | 400428

**Growth properties** Προσκολλημένο

## Ρυθμιστικά δεδομένα

**Citation** M2-10B4 (αριθμός καταλόγου Cytion 400428)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10090

**CellosaurusAccession** CVCL\_5794

## Βιομοριακά δεδομένα

**Products** Λαμινίνη, κολλαγόνο IV (κολλαγόνο I(-), παράγοντας VIII(-).

## Χειρισμός

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)

**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  κύτταρα/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

**Post-Thaw Recovery** Η βιωσιμότητα μπορεί να είναι χαμηλή μετά την απόψυξη.

**Κύτταρα M2-10B4 | 400428****Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα  $300 \times g$  για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Flask Coating**

Κανένα

## Κύτταρα M2-10B4 | 400428

### Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου  $-150$  έως  $-196^{\circ}\text{C}$ . Η αποθήκευση στους  $-80^{\circ}\text{C}$  είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

## Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

### Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.