

M2-10B4 rakud | 400428**Üldine teave****Description**

M2-10B4 rakuliin on kloon, mis on saadud (C57BL/6J X C3H/HeJ)F1 hiire luuüdi stroomarakkudest. Need stroomirakud on luuüdi mikrokeskkonna olulised komponendid ja mängivad olulist rolli vereloome toetamisel. M2-10B4 rakud on eriti väärtuslikud stroomi- ja vereloome rakkude vastastikmõju uurimiseks, kuna need võivad pikaajalises kultuuris toetada nii inimese kui ka hiire müelopoeesi. Lisaks sellele suudavad need rakud säilitada in vitro teatavaid hiire stroomirakkudest sõltuvaid pre-B rakuliine, mis muudab need mitmekülgseks vahendiks hematopoeetilistes uuringutes.

M2-10B4 rakud ekspresseerivad olulisi rakuvälise maatriksi komponente, nagu laminiin ja kollageen IV, mis aitavad kaasa nende võimele toetada vereloome rakke. Siiski ei ekspresseeri nad kollageen I või VIII faktorit, mis eristab neid teistest stroomi rakuliinidest. Laminiini ja kollageen IV olemasolu on luuüdi mikrokeskkonna säilitamiseks kriitilise tähtsusega, mõjutades rakkude adhesiivsust, diferentseerumist ja signaaliradu. Teadlased kasutavad M2-10B4 rakuliini sageli ko-kultuurisüsteemides, et uurida stroomirakkude mõju vereloome eellaste käitumisele, eriti luuüdi füsioloogia ja haiguste mudelite kontekstis.

Arvestades nende päritolu ja funktsionaalseid omadusi, on M2-10B4 rakud oluline mudel luuüdi niši uurimiseks, eriti seoses hematoloogiliste haigustega, nagu näiteks leukeemia. Need on kasulikud ka ravimite sõelumisel ja luuüdi mikrokeskkonnale suunatud ravistrateegiate väljatöötamisel.

Organism Hiir**Tissue** Luuüdi**Synonyms** M210B4**Omadused****Breed/Subspecies** C57BL/6J x C3H/HeJ**Age** Täpsustamata**Gender** Naised**Morphology** Fibroblastilaadsed**Cell type** Fibroblastide**Growth properties** Kinnipeetav**Regulatiivsed andmed**

M2-10B4 rakud | 400428**Citation** M2-10B4 (Cytioni katalooginumber 400428)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5794**Biomolekulaarsed andmed****Products** Laminiin, kollageen IV (kollageen I(-), VIII(-) faktor).**Töötlemine****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Seeding density** 1×10^4 rakku/cm²**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Post-Thaw Recovery** Pärast sulatamist võib elujõulisus olla madal.**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

M2-10B4 rakud | 400428

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

M2-10B4 rakud | 400428

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.