

M2-10B4 sejtek | 400428**Általános információk****Description**

Az M2-10B4 sejt vonal egy (C57BL/6J X C3H/HeJ)F1 egérből származó csontvelő-stroma sejtekből származó klón. Ezek a stromasejtek a csontvelő mikrokozonyzatának alapvető összetevői, és jelentős szerepet játszanak a vérképzés támogatásában. Az M2-10B4 sejtek különösen értékesek a stromális és vérképző sejtek közötti kölcsönhatásokra összpontosító kutatások számára, mivel hosszú távú tenyésztésben mind a humán, mind az egér myelopoiesist képesek támogatni. Ezen túlmenően ezek a sejtek képesek in vitro fenntartani bizonyos egér stromasejt-függő pre-B sejt vonalakat, ami sokoldalú eszközzé teszi őket a vérképzőszervi kutatásokban.

Az M2-10B4 sejtek olyan fontos extracelluláris mátrix komponenseket expresszálnak, mint a laminin és a kollagén IV, amelyek hozzájárulnak a vérképző sejtek támogatására való képességükhöz. Nem expresszálnak azonban kollagén I-et vagy VIII-as faktort, ami megkülönbözteti őket más stroma sejt vonalaktól. A laminin és a kollagén IV jelenléte kritikus fontosságú a csontvelő mikrokozonyzat fenntartásában, mivel befolyásolja a sejtek adhézióját, differenciálódását és a jelátviteli út vonalakat. A kutatók gyakran használják az M2-10B4 sejt vonalat ko-kultúras rendszerekben a stromasejteknek a vérképzőszervi elődsejtek viselkedésére gyakorolt hatásainak vizsgálatára, különösen a csontvelő fiziológiájával és a betegségmodellekkel összefüggésben.

Eredetük és funkcionális tulajdonságaik miatt az M2-10B4 sejtek alapvető modellnek számítanak a csontvelő niche tanulmányozásához, különösen az olyan hematológiai rendellenességekkel kapcsolatban, mint a leukémia. Hasznosak továbbá a gyógyszerészúrésben és a csontvelő mikrokozonyzatát célzó terápiás stratégiák kifejlesztésében is.

Organism Egér**Tissue** Csontvelő**Synonyms** M210B4**Jellemzők****Breed/Subspecies** C57BL/6J x C3H/HeJ**Age** Meghatározatlan**Gender** Női**Morphology** Fibroblaszt-szerű**Cell type** Fibroblasztok**Growth properties** Adherent

M2-10B4 sejtek | 400428

Szabályozási adatok

Citation M2-10B4 (Cytion katalógusszám 400428)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5794

Biomolekuláris adatok

Products Laminin, kollagén IV (kollagén I(-), VIII(-) faktor.

A kezelése

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion 820700a cikkszám)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Seeding density 1×10^4 sejt/cm²

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

Post-Thaw Recovery A felolvasztás után az életképesség alacsony lehet.

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

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

M2-10B4 sejtek | 400428

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.