

M2-10B4 ląstelės | 400428**Bendra informacija****Description**

M2-10B4 ląstelių linija yra klonas, gautas iš kaulų čiulpų stromos ląstelių, gautų iš (C57BL/6J X C3H/HeJ)F1 pelės. Šios stromos ląstelės yra esminiai kaulų čiulpų mikroaplinkos komponentai ir atlieka svarbų vaidmenį palaikant kraujodarą. M2-10B4 ląstelės yra ypač vertingos atliekant tyrimus, skirtus stromos ir kraujodaros ląstelių sąveikai tirti, nes jos gali palaikyti ir žmogaus, ir pelės mielopoezę ilgalaikėje kultūroje. Be to, šios ląstelės gali palaikyti tam tikras nuo pelės stromos ląstelių priklausomas pre-B ląstelių linijas in vitro, todėl jos yra universali priemonė kraujodaros tyrimams.

M2-10B4 ląstelės išreiškia svarbius ekstraląstelinio matrikso komponentus, tokius kaip lamininas ir kolagenas IV, kurie prisideda prie jų gebėjimo palaikyti kraujodaros ląsteles. Tačiau jos neišreiškia kolageno I ir VIII faktoriaus, o tai jas skiria nuo kitų stromos ląstelių linijų. Laminino ir kolageno IV buvimas yra labai svarbus kaulų čiulpų mikroaplinkos palaikymui, nes daro įtaką ląstelių sukibimui, diferenciacijai ir signaliniams keliams. Mokslininkai dažnai naudoja M2-10B4 ląstelių liniją bendrakultūrinėse sistemose, siekdami iširti stromos ląstelių poveikį kraujodaros progenitorių elgsenai, ypač atsižvelgiant į kaulų čiulpų fiziologiją ir ligų modelius.

Atsižvelgiant į jų kilmę ir funkcines savybes, M2-10B4 ląstelės yra labai svarbus modelis kaulų čiulpų nišai tirti, ypač atsižvelgiant į hematologinius sutrikimus, pavyzdžiui, leukemiją. Jos taip pat naudingos vaistų atrankai ir terapinių strategijų, nukreiptų į kaulų čiulpų mikroaplinką, kūrimui.

Organism Pelė**Tissue** Kaulų čiulpai**Synonyms** M210B4**Charakteristikos****Breed/Subspecies** C57BL/6J x C3H/HeJ**Age** Nenustatyta**Gender** Moteris**Morphology** Į fibroblastus panašus**Cell type** Fibroblastai**Growth properties** Prigludęs**Reguliavimo duomenys**

M2-10B4 ląstelės | 400428**Citation** M2-10B4 (Cytion katalogo numeris 400428)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5794**Biomolekuliniai duomenys****Products** Lamininas, kolagenas IV (kolagenas I(-), faktorius VIII(-)).**Tvarkymas****Culture Medium** RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Seeding density** 1×10^4 ląstelės/cm²**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Post-Thaw Recovery** Atšildžius gyvybingumas gali būti mažas.**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

M2-10B4 ląstelės | 400428

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

M2-10B4 ląstelės | 400428

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.