

**M2-10B4 šūnas | 400428****Vispārīga informācija****Description**

M2-10B4 šūnu līnija ir klons, kas iegūts no kaulu smadzeņu stromālajām šūnām, kuras iegūtas no (C57BL/6J X C3H/HeJ)F1 peles. Šīs stromālās šūnas ir būtiskas kaulu smadzeņu mikrovides sastāvdaļas, un tām ir nozīmīga loma hematopoēzes atbalstā. M2-10B4 šūnas ir īpaši vērtīgas pētījumiem, kas vērsti uz stromālo un hematopoētisko šūnu mijiedarbību, jo tās var atbalstīt gan cilvēka, gan peļu mielopoēzi ilgtermiņa kultūrā. Turklāt šīs šūnas var in vitro uzturēt noteiktas no peļu stromālajām šūnām atkarīgas pre-B šūnu līnijas, padarot tās par daudzpusīgu instrumentu hematopoētiskajos pētījumos.

M2-10B4 šūnas ekspresē svarīgus ārēju matriksa komponentus, piemēram, lamīnu un kolagēnu IV, kas veicina to spēju atbalstīt hematopoētiskās šūnas. Tomēr tās neekspresē kolagēnu I vai VIII faktoru, kas tās atšķir no citām stromālo šūnu līnijām. Laminīna un kolagēna IV klātbūtne ir būtiska kaulu smadzeņu mikrovides uzturēšanai, ietekmējot šūnu adhēziju, diferenciaciju un signalizācijas ceļus. Pētnieki bieži izmanto M2-10B4 šūnu līniju kopkultūru sistēmās, lai pētītu stromālo šūnu ietekmi uz hematopoētisko progenitoru uzvedību, jo īpaši saistībā ar kaulu smadzeņu fizioloģiju un slimību modeļiem.

Ņemot vērā M2-10B4 šūnu izcelsmi un funkcionālās īpašības, tās ir būtisks modelis kaulu smadzeņu nišas izpētei, jo īpaši saistībā ar tādām hematoloģiskām slimībām kā leikēmija. Tās ir noderīgas arī zāļu skrīningam un tādu terapeitisko stratēģiju izstrādei, kas vērstas uz kaulu smadzeņu mikrovidi.

**Organism** Pele**Tissue** Kaulu smadzenes**Synonyms** M210B4**Raksturojums****Breed/Subspecies** C57BL/6J x C3H/HeJ**Age** Nav norādīts**Gender** Sievietes**Morphology** Fibroblastiem līdzīgs**Cell type** Fibroblasti**Growth properties** Adherent**Normatīvie dati**

**M2-10B4 šūnas | 400428****Citation** M2-10B4 (Cytion kataloga numurs 400428)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_5794**Biomolekulārie dati****Products** Laminīns, kolagēns IV (kolagēns I(-), faktors VIII(-)).**Darbs ar****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas dzīvotspēja var būt zema.**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanu un samazinātu krioinducēto stresu.

## M2-10B4 šūnas | 400428

### Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

### Flask Coating

Neviens

### Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**M2-10B4 šūnas | 400428**

**Shipping  
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage  
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

**Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA**

**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.