

M2-10B4 Cellen | 400428**Algemene informatie****Description**

De M2-10B4 cellijn is een kloon afgeleid van beenmergstromale cellen van een (C57BL/6J X C3H/HeJ)F1 muis. Deze stromale cellen zijn essentiële componenten van de beenmergmicro-omgeving en spelen een belangrijke rol in de ondersteuning van hematopoëse. De M2-10B4 cellen zijn bijzonder waardevol voor onderzoek gericht op de interacties tussen stromale en hematopoëtische cellen, omdat ze zowel menselijke als murine myelopoëse kunnen ondersteunen in langdurige kweek. Bovendien kunnen deze cellen bepaalde murine stromale cel-afhankelijke pre-B cellijnen in vitro ondersteunen, waardoor ze een veelzijdig hulpmiddel zijn voor hematopoëtisch onderzoek.

De M2-10B4 cellen brengen belangrijke extracellulaire matrixcomponenten zoals laminine en collageen IV tot expressie, wat bijdraagt aan hun vermogen om hematopoëtische cellen te ondersteunen. Ze brengen echter geen collageen I of Factor VIII tot expressie, waardoor ze zich onderscheiden van andere stromale cellijnen. De aanwezigheid van laminine en collageen IV is essentieel voor het behoud van de beenmergmicro-omgeving en beïnvloedt de celadhesie, differentiatie en signaalwegen. Onderzoekers gebruiken de M2-10B4 cellijn vaak in co-cultuur systemen om de effecten van stromale cellen op het gedrag van hematopoietische progenitors te onderzoeken, met name in de context van beenmergfysiologie en ziektemodellen.

Gezien hun oorsprong en functionele eigenschappen zijn M2-10B4 cellen een essentieel model voor het bestuderen van de beenmergniche, vooral in relatie tot hematologische aandoeningen zoals leukemie. Ze zijn ook nuttig bij het screenen van geneesmiddelen en de ontwikkeling van therapeutische strategieën gericht op de beenmerg micro-omgeving.

Organism Muis**Tissue** Beenmerg**Synonyms** M210B4**Kenmerken****Breed/Subspecies** C57BL/6J x C3H/HeJ**Age** Ongespecificeerd**Gender** Vrouw**Morphology** Fibroblast-achtige**Cell type** Fibroblast**Growth properties** Aanhangend

M2-10B4 Cellen | 400428**Regelgevende gegevens****Citation** M2-10B4 (Cytion catalogusnummer 400428)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5794**Biomoleculaire gegevens****Products** Laminine, collageen IV (Collageen I(-), Factor VIII(-)).**Omgaan met****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio Een verhouding van 1:4 tot 1:6 wordt aanbevolen**Seeding density** 1×10^4 cellen/cm²**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week**Post-Thaw Recovery** De levensvatbaarheid kan laag zijn na ontdooien.

M2-10B4 Cellen | 400428

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

M2-10B4 Cellen | 400428

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.