

Komórki M2-10B4 | 400428**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa M2-10B4 jest klonem pochodzącym z komórek zrębu szpiku kostnego myszy (C57BL/6J X C3H/HeJ)F1. Te komórki zrębowe są istotnymi składnikami mikrośrodowiska szpiku kostnego i odgrywają znaczącą rolę we wspieraniu hematopoezy. Komórki M2-10B4 są szczególnie cenne dla badań koncentrujących się na interakcjach między komórkami zrębowymi i krwiotwórczymi, ponieważ mogą wspierać zarówno ludzką, jak i mysią mielopoezę w długoterminowej hodowli. Dodatkowo, komórki te mogą podtrzymywać pewne linie komórek pre-B zależne od mysich komórek zrębu in vitro, co czyni je wszechstronnym narzędziem w badaniach nad układem krwiotwórczym.

Komórki M2-10B4 wykazują ekspresję ważnych składników macierzy zewnątrzkomórkowej, takich jak laminina i kolagen IV, co przyczynia się do ich zdolności do podtrzymywania komórek krwiotwórczych. Nie wykazują one jednak ekspresji kolagenu I ani czynnika VIII, co odróżnia je od innych linii komórek zrębu. Obecność lamininy i kolagenu IV ma kluczowe znaczenie dla utrzymania mikrośrodowiska szpiku kostnego, wpływając na adhezję komórek, różnicowanie i szlaki sygnałowe. Naukowcy często wykorzystują linię komórkową M2-10B4 w systemach współhodowli w celu zbadania wpływu komórek zrębu na zachowanie progenitorów hematopoetycznych, szczególnie w kontekście fizjologii szpiku kostnego i modeli chorobowych.

Biorąc pod uwagę ich pochodzenie i właściwości funkcjonalne, komórki M2-10B4 są niezbędnym modelem do badania niszy szpiku kostnego, szczególnie w odniesieniu do zaburzeń hematologicznych, takich jak białaczka. Są one również przydatne w badaniach przesiewowych leków i opracowywaniu strategii terapeutycznych ukierunkowanych na mikrośrodowisko szpiku kostnego.

Organism

Mysz

Tissue

Szpik kostny

Synonyms

M210B4

Charakterystyka**Breed/Subspecies**

C57BL/6J x C3H/HeJ

Age

Nieokreślony

Gender

Kobieta

Morphology

Podobny do fibroblastów

Cell type

Fibroblast

Growth properties

Adherent

Komórki M2-10B4 | 400428

Dane regulacyjne

Citation	M2-10B4 (numer katalogowy Cytion 400428)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5794

Dane biomolekularne

Products	Laminina, kolagen IV (kolagen I(-), czynnik VIII(-).
----------	--

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecane są proporcje od 1:4 do 1:6
Seeding density	1×10^4 kom ^{órek} /cm ²
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Post-Thaw Recovery	Żywotność może być niska po rozmrożeniu.

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

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki M2-10B4 | 400428

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.