

Bunky M2-10B4 | 400428**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia M2-10B4 je klon odvodený zo stromálnych buniek kostnej drene myší (C57BL/6J X C3H/HeJ)F1. Tieto stromálne bunky sú základnými zložkami mikroprostredia kostnej drene a zohrávajú významnú úlohu pri podpore krvotvorby. Bunky M2-10B4 sú obzvlášť cenné pre výskum zameraný na interakcie medzi stromálnymi a hematopoetickými bunkami, pretože môžu podporovať ľudskú aj myšiu myelopoézu v dlhodobej kultúre. Okrem toho môžu tieto bunky podporovať určité myšie pre-B bunkové línie závislé od stromálnych buniek in vitro, čo z nich robí univerzálny nástroj v hematopoetickom výskume.

Bunky M2-10B4 exprimujú dôležité zložky extracelulárnej matrix, ako sú laminín a kolagén IV, ktoré prispievajú k ich schopnosti podporovať hematopoetické bunky. Neexprimujú však kolagén I ani faktor VIII, čo ich odlišuje od iných stromálnych bunkových línií. Prítomnosť laminínu a kolagénu IV je rozhodujúca pre udržiavanie mikroprostredia kostnej drene, ovplyvňuje adhéziu buniek, diferenciáciu a signálne dráhy. Výskumníci často využívajú bunkovú líniu M2-10B4 v kokultúrnych systémoch na skúmanie účinkov stromálnych buniek na správanie krvotvorných progenitorov, najmä v kontexte fyziológie kostnej drene a modelov ochorení.

Vzhľadom na svoj pôvod a funkčné vlastnosti sú bunky M2-10B4 základným modelom na štúdium niky kostnej drene, najmä v súvislosti s hematologickými poruchami, ako je leukémia. Sú tiež užitočné pri skríningu liekov a vývoji terapeutických stratégií zameraných na mikroprostredie kostnej drene.

Organism Myš**Tissue** Kostná dreň**Synonyms** M210B4**Charakteristika****Breed/Subspecies** C57BL/6J x C3H/HeJ**Age** Nešpecifikované**Gender** Ženy**Morphology** Fibroblastom podobné**Cell type** Fibroblasty**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje**

Bunky M2-10B4 | 400428**Citation** M2-10B4 (katalógové číslo Cytion 400428)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5794**Biomolekulárne údaje****Products** Laminín, kolagén IV (kolagén I(-), faktor VIII(-).**Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výroby Cytion 820700a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Seeding density 1×10^4 buniek/cm²**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Post-Thaw Recovery** Životaschopnosť môže byť po rozmrazení nízka.

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky M2-10B4 | 400428

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky M2-10B4 | 400428

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.