

**M2-10B4-celler | 400428****Generell informasjon****Description**

M2-10B4-cellelinjen er en klon avledet fra stromaceller i benmargen fra en (C57BL/6J X C3H/HeJ)F1-mus. Disse stromacellene er viktige komponenter i benmargens mikromiljø og spiller en viktig rolle i hematopoiesen. M2-10B4-cellene er spesielt verdifulle for forskning som fokuserer på samspillet mellom stromaceller og hematopoietiske celler, ettersom de kan støtte både human og murin myelopoiesis i langtidskulturer. I tillegg kan disse cellene opprettholde visse murine stromacelleavhengige pre-B-cellelinjer in vitro, noe som gjør dem til et allsidig verktøy i hematopoietisk forskning.

M2-10B4-cellene uttrykker viktige ekstracellulære matrikskomponenter som laminin og kollagen IV, noe som bidrar til deres evne til å støtte hematopoietiske celler. De uttrykker imidlertid ikke kollagen I eller faktor VIII, noe som skiller dem fra andre stromale cellelinjer. Tilstedeværelsen av laminin og kollagen IV er avgjørende for opprettholdelsen av benmargens mikromiljø, og påvirker celleadhesjon, differensiering og signalveier. Forskere bruker ofte M2-10B4-cellelinjen i samdyrkingssystemer for å undersøke effekten av stromaceller på atferden til hematopoietiske progenitorer, særlig i forbindelse med benmargsfysiologi og sykdomsmodeller.

M2-10B4-celler er på grunn av sin opprinnelse og sine funksjonelle egenskaper en viktig modell for å studere benmargsnisjen, spesielt i forbindelse med hematologiske lidelser som leukemi. De er også nyttige i screening av legemidler og i utviklingen av terapeutiske strategier rettet mot benmargens mikromiljø.

**Organism** Mus**Tissue** Benmarg**Synonyms** M210B4**Kjennetegn****Breed/Subspecies** C57BL/6J x C3H/HeJ**Age** Uspesifisert**Gender** Kvinne**Morphology** Fibroblastlignende**Cell type** Fibroblast**Growth properties** Vedhengende**Regulatoriske data**

**M2-10B4-celler | 400428****Citation** M2-10B4 (Cytion-katalognummer 400428)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_5794**Biomolekylære data****Products** Laminin, kollagen IV (kollagen I(-), faktor VIII(-).**Håndtering****Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikkelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

**Split ratio** Et forhold på 1:4 til 1:6 anbefales**Seeding density**  $1 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Post-Thaw Recovery** Levedyktigheten kan være lav etter tining.

**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

**M2-10B4-celler | 400428****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

**Incubation  
Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

**Flask Coating**

Ingen

**Freezing  
Procedure**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Shipping  
Conditions**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### M2-10B4-celler | 400428

#### **Storage Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

### Kvalitetskontroll og molekylær analyse

#### **Sterility**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.