

M2-10B4-celler | 400428**Allmän information****Description**

M2-10B4-cellinjen är en klon som härrör från benmärgsstromaceller från en (C57BL/6J X C3H/HeJ)F1-mus. Dessa stromaceller är väsentliga komponenter i benmärgens mikromiljö och spelar en viktig roll för att stödja hematopoesen. M2-10B4-cellerna är särskilt värdefulla för forskning som fokuserar på interaktioner mellan stromaceller och hematopoetiska celler, eftersom de kan stödja myelopoesen hos både människa och mus i långtidsodling. Dessutom kan dessa celler upprätthålla vissa murina stromacellberoende pre-B-cellinjer in vitro, vilket gör dem till ett mångsidigt verktyg inom hematopoetisk forskning.

M2-10B4-cellerna uttrycker viktiga extracellulära matrixkomponenter som laminin och kollagen IV, vilket bidrar till deras förmåga att stödja hematopoetiska celler. De uttrycker dock inte kollagen I eller faktor VIII, vilket skiljer dem från andra stromala cellinjer. Förekomsten av laminin och kollagen IV är avgörande för upprätthållandet av benmärgens mikromiljö och påverkar celladhesion, differentiering och signalvägar. Forskare använder ofta M2-10B4-cellinjen i samodlingssystem för att utforska effekterna av stromaceller på beteendet hos hematopoetiska progenitorer, särskilt i samband med benmärgsfysiologi och sjukdomsmodeller.

M2-10B4-celler är på grund av sitt ursprung och sina funktionella egenskaper en viktig modell för att studera benmärgsnischen, särskilt i relation till hematologiska sjukdomar som leukemi. De är också användbara vid läkemedelsscreening och utveckling av terapeutiska strategier som riktar sig mot benmärgens mikromiljö.

Organism Mus**Tissue** Benmärg**Synonyms** M210B4**Egenskaper****Breed/Subspecies** C57BL/6J x C3H/HeJ**Age** Ospecificerad**Gender** Kvinna**Morphology** Fibroblastliknande**Cell type** Fibroblast**Growth properties** Följsam**Lagstadgade uppgifter**

M2-10B4-celler | 400428**Citation** M2-10B4 (Cytion katalognummer 400428)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5794**Biomolekylära data****Products** Laminin, kollagen IV (kollagen I(-), faktor VIII(-).**Hantering****Culture Medium** RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Split ratio Ett förhållande på 1:4 till 1:6 rekommenderas**Seeding density** 1×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka**Post-Thaw Recovery** Viabiliteten kan vara låg efter upptining.

Freeze medium Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

M2-10B4-celler | 400428

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödesbänk och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturbelägg; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

M2-10B4-celler | 400428

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekyllär analys

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.