

**Celice M2-10B4 | 400428****Splošne informacije****Description**

Celična linija M2-10B4 je klon, pridobljen iz stromalnih celic kostnega mozga miši (C57BL/6J X C3H/HeJ)F1. Te stromalne celice so bistvene sestavine mikrookolja kostnega mozga in imajo pomembno vlogo pri podpiranju hematopoeze. Celice M2-10B4 so še posebej dragocene za raziskave, osredotočene na interakcije med stromalnimi in hematopoetskimi celicami, saj lahko v dolgotrajni kulturi podpirajo tako človeško kot mišjo mielopoezo. Poleg tega lahko te celice in vitro vzdržujejo nekatere linije celic pre-B, ki so odvisne od mišjih stromalnih celic, zaradi česar so vsestransko orodje za raziskave krvotvorbe.

Celice M2-10B4 izražajo pomembne sestavine zunajceličnega matriksa, kot sta laminin in kolagen IV, ki prispevajo k njihovi sposobnosti podpiranja krvotvornih celic. Vendar ne izražajo kolagena I ali faktorja VIII, kar jih razlikuje od drugih stromalnih celičnih linij. Prisotnost laminina in kolagena IV je ključnega pomena za vzdrževanje mikrookolja kostnega mozga, saj vpliva na adhezijo, diferenciacijo in signalne poti celic. Raziskovalci pogosto uporabljajo celično linijo M2-10B4 v sistemih ko-kulture za raziskovanje učinkov stromalnih celic na obnašanje krvotvornih progenitorjev, zlasti v okviru fiziologije kostnega mozga in modelov bolezni.

Zaradi svojega izvora in funkcionalnih lastnosti so celice M2-10B4 bistven model za preučevanje niše kostnega mozga, zlasti v povezavi s hematološkimi boleznimi, kot je levkemija. Uporabne so tudi pri preverjanju zdravil in razvoju terapevtskih strategij, usmerjenih v mikrookolje kostnega mozga.

**Organism** Miška**Tissue** Kostni mozeg**Synonyms** M210B4**Značilnosti****Breed/Subspecies** C57BL/6J x C3H/HeJ**Age** Neopredeljeno**Gender** Ženske**Morphology** Fibroblastom podobni**Cell type** Fibroblast**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki**

**Celice M2-10B4 | 400428****Citation** M2-10B4 (katalogska številka Cytion 400428)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_5794**Biomolekularni podatki****Products** Laminin, kolagen IV (kolagen I(-), faktor VIII(-)).**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (številka izdelka Cytion 820700a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  celic/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Post-Thaw Recovery** Po odmrznitvi je vitalnost lahko nizka.**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogska številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

## Celice M2-10B4 | 400428

### Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod  $-150^{\circ}\text{C}$ , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri  $37^{\circ}\text{C}$  ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri  $300 \times g$  3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , vlažno ozračje.

### Flask Coating

Nič

### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Celice M2-10B4 | 400428

---

#### **Storage Conditions**

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

### **Kontrola kakovosti in molekularna analiza**

#### **Sterility**

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.