

Cellules M2-10B4 | 400428**Informations générales****Description**

La lignée cellulaire M2-10B4 est un clone dérivé des cellules stromales de la moelle osseuse d'une souris (C57BL/6J X C3H/HeJ)F1. Ces cellules stromales sont des composants essentiels du microenvironnement de la moelle osseuse et jouent un rôle important dans le soutien de l'hématopoïèse. Les cellules M2-10B4 sont particulièrement précieuses pour la recherche axée sur les interactions entre les cellules stromales et les cellules hématopoïétiques, car elles peuvent soutenir la myélopoïèse humaine et murine dans une culture à long terme. En outre, ces cellules peuvent soutenir in vitro certaines lignées de cellules pré-B dépendantes des cellules stromales murines, ce qui en fait un outil polyvalent pour la recherche hématopoïétique.

Les cellules M2-10B4 expriment des composants importants de la matrice extracellulaire tels que la laminine et le collagène IV, ce qui contribue à leur capacité à soutenir les cellules hématopoïétiques. Cependant, elles n'expriment pas le collagène I ou le facteur VIII, ce qui les distingue des autres lignées de cellules stromales. La présence de laminine et de collagène IV est essentielle au maintien du microenvironnement de la moelle osseuse, car elle influence l'adhésion cellulaire, la différenciation et les voies de signalisation. Les chercheurs utilisent souvent la lignée cellulaire M2-10B4 dans des systèmes de co-culture pour explorer les effets des cellules stromales sur le comportement des progéniteurs hématopoïétiques, en particulier dans le contexte de la physiologie de la moelle osseuse et des modèles de maladie.

Compte tenu de leur origine et de leurs propriétés fonctionnelles, les cellules M2-10B4 constituent un modèle essentiel pour l'étude de la niche de la moelle osseuse, notamment en relation avec des troubles hématologiques tels que la leucémie. Elles sont également utiles pour le criblage de médicaments et le développement de stratégies thérapeutiques ciblant le microenvironnement de la moelle osseuse.

Organism Souris**Tissue** Moelle osseuse**Synonyms** M210B4**Caractéristiques****Breed/Subspecies** C57BL/6J x C3H/HeJ**Age** Non spécifié**Gender** Femme**Morphology** De type fibroblastique**Cell type** Fibroblaste**Growth properties** Adhérent

Cellules M2-10B4 | 400428**Données réglementaires****Citation** M2-10B4 (numéro de catalogue Cytion 400428)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5794**Données biomoléculaires****Products** Laminine, collagène IV (collagène I(-), facteur VIII(-)).**Manipulation****Culture Medium** RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820700a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Split ratio Un rapport de 1:4 à 1:6 est recommandé**Seeding density** 1×10^4 cellules/cm²**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine**Post-Thaw Recovery** La viabilité peut être faible après décongélation.

Cellules M2-10B4 | 400428

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Cellules M2-10B4 | 400428

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.