

Cellule M2-10B4 | 400428**Informazioni generali****Description**

La linea cellulare M2-10B4 è un clone derivato da cellule stromali del midollo osseo di un topo (C57BL/6J X C3H/HeJ)F1. Queste cellule stromali sono componenti essenziali del microambiente del midollo osseo e svolgono un ruolo significativo nel sostenere l'emopoiesi. Le cellule M2-10B4 sono particolarmente preziose per la ricerca incentrata sulle interazioni tra cellule stromali ed emopoietiche, in quanto possono sostenere la mielopoiesi umana e murina in colture a lungo termine. Inoltre, queste cellule possono sostenere in vitro alcune linee di cellule pre-B dipendenti da cellule stromali murine, rendendole uno strumento versatile nella ricerca ematopoietica.

Le cellule M2-10B4 esprimono importanti componenti della matrice extracellulare, come la laminina e il collagene IV, che contribuiscono alla loro capacità di sostenere le cellule ematopoietiche. Tuttavia, non esprimono collagene I o Fattore VIII, il che le distingue da altre linee di cellule stromali. La presenza di laminina e collagene IV è fondamentale per il mantenimento del microambiente del midollo osseo, influenzando l'adesione cellulare, la differenziazione e le vie di segnalazione. I ricercatori utilizzano spesso la linea cellulare M2-10B4 in sistemi di co-cultura per esplorare gli effetti delle cellule stromali sul comportamento dei progenitori ematopoietici, in particolare nel contesto della fisiologia del midollo osseo e dei modelli di malattia.

Data la loro origine e le loro proprietà funzionali, le cellule M2-10B4 sono un modello essenziale per lo studio della nicchia del midollo osseo, soprattutto in relazione a patologie ematologiche come la leucemia. Sono inoltre utili per lo screening di farmaci e lo sviluppo di strategie terapeutiche mirate al microambiente del midollo osseo.

Organism

Mouse

Tissue

Midollo osseo

Synonyms

M210B4

Caratteristiche**Breed/Subspecies**

C57BL/6J x C3H/HeJ

Age

Non specificato

Gender

Donna

Morphology

Simile a un fibroblasto

Cell type

Fibroblasti

Growth properties

Aderente

Cellule M2-10B4 | 400428**Dati normativi****Citation** M2-10B4 (numero di catalogo Cytion 400428)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5794**Dati biomolecolari****Products** Laminina, collagene IV (collagene I(-), fattore VIII(-).**Manipolazione****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO₃ (articolo Cytion numero 820700a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Split ratio Si consiglia un rapporto da 1:4 a 1:6**Seeding density** 1×10^4 cellule/cm²**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana**Post-Thaw Recovery** La vitalità può essere bassa dopo lo scongelamento.

Cellule M2-10B4 | 400428

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongellamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule M2-10B4 | 400428

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.