

Células M2-10B4 | 400428**Informações gerais****Description**

A linha celular M2-10B4 é um clone derivado de células estromais da medula óssea de um ratinho (C57BL/6J X C3H/HeJ)F1. Estas células estromais são componentes essenciais do microambiente da medula óssea e desempenham um papel significativo no apoio à hematopoiese. As células M2-10B4 são particularmente valiosas para a investigação centrada nas interações entre células estromais e hematopoiéticas, uma vez que podem suportar a mielopoiese humana e murina em cultura a longo prazo. Além disso, estas células podem sustentar certas linhas de células pré-B dependentes de células estromais murinas in vitro, o que as torna uma ferramenta versátil na investigação hematopoiética.

As células M2-10B4 expressam componentes importantes da matriz extracelular, como a laminina e o colagénio IV, que contribuem para a sua capacidade de suportar células hematopoiéticas. No entanto, não expressam colagénio I ou fator VIII, o que as distingue de outras linhas de células estromais. A presença de laminina e colagénio IV é fundamental para a manutenção do microambiente da medula óssea, influenciando a adesão, a diferenciação e as vias de sinalização das células. Os investigadores utilizam frequentemente a linha celular M2-10B4 em sistemas de co-cultura para explorar os efeitos das células estromais no comportamento dos progenitores hematopoiéticos, particularmente no contexto da fisiologia da medula óssea e de modelos de doença.

Dada a sua origem e propriedades funcionais, as células M2-10B4 são um modelo essencial para o estudo do nicho da medula óssea, especialmente em relação a doenças hematológicas como a leucemia. São também úteis no rastreio de fármacos e no desenvolvimento de estratégias terapêuticas dirigidas ao microambiente da medula óssea.

Organism

Rato

Tissue

Medula óssea

Synonyms

M210B4

Caraterísticas**Breed/Subspecies**

C57BL/6J x C3H/HeJ

Age

Não especificado

Gender

Feminino

Morphology

Tipo fibroblastos

Cell type

Fibroblastos

Growth properties

Aderente

Células M2-10B4 | 400428**Dados regulamentares****Citation** M2-10B4 (número de catálogo Cytion 400428)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5794**Dados biomoleculares****Products** Laminina, colagénio IV (colagénio I(-), fator VIII(-).**Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Seeding density 1×10^4 células/cm²**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Post-Thaw Recovery** A viabilidade pode ser baixa após a descongelação.

Células M2-10B4 | 400428**Freeze
medium**

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Células M2-10B4 | 400428

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.