

Celule M2-10B4 | 400428**Informații generale****Description**

Linia celulară M2-10B4 este o clonă derivată din celulele stromale ale măduvei osoase de la un șoarece (C57BL/6J X C3H/HeJ)F1. Aceste celule stromale sunt componente esențiale ale micro-mediului măduvei osoase și joacă un rol semnificativ în susținerea hematopoiezei. Celulele M2-10B4 sunt deosebit de valoroase pentru cercetarea axată pe interacțiunile dintre celulele stromale și hematopoietice, deoarece pot susține mielopoieza umană și murină în culturi pe termen lung. În plus, aceste celule pot susține in vitro anumite linii de celule pre-B dependente de celulele stromale murine, ceea ce le face un instrument versatil în cercetarea hematopoietică.

Celulele M2-10B4 exprimă componente importante ale matricei extracelulare, cum ar fi laminina și colagenul IV, care contribuie la capacitatea lor de a susține celulele hematopoietice. Cu toate acestea, ele nu exprimă colagen I sau factor VIII, ceea ce le diferențiază de alte linii de celule stromale. Prezența lamininei și a colagenului IV este esențială pentru menținerea micro-mediului măduvei osoase, influențând adeziunea celulară, diferențierea și căile de semnalizare. Cercetătorii utilizează adesea linia celulară M2-10B4 în sisteme de co-cultură pentru a explora efectele celulelor stromale asupra comportamentului progenitorilor hematopoietici, în special în contextul fiziologiei măduvei osoase și al modelelor de boală.

Având în vedere originea și proprietățile lor funcționale, celulele M2-10B4 sunt un model esențial pentru studierea nișei măduvei osoase, în special în ceea ce privește tulburările hematologice, cum ar fi leucemia. Ele sunt, de asemenea, utile în screeningul medicamentelor și în dezvoltarea strategiilor terapeutice care vizează micro-mediul măduvei osoase.

Organism Șoarece**Tissue** Măduva osoasă**Synonyms** M210B4**Caracteristici****Breed/Subspecies** C57BL/6J x C3H/HeJ**Age** Nespecificat**Gender** Femei**Morphology** Fibroblast-like**Cell type** Fibroblast**Growth properties** Aderent

Celule M2-10B4 | 400428

Date de reglementare

Citation	M2-10B4 (număr de catalog Cytion 400428)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5794

Date biomoleculare

Products	Laminină, collagen IV (collagen I(-), factor VIII(-).
----------	---

Manipulare

Culture Medium	RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO ₃ (număr articol Cytion 820700a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
Seeding density	1 x 10 ⁴ celule/cm ²
Fluid renewal	de 2 până la 3 ori pe săptămână
Post-Thaw Recovery	Viabilitatea poate fi scăzută după decongelare.
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule M2-10B4 | 400428

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule M2-10B4 | 400428

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.