

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

A linhagem celular M2-10B4 é um clone derivado de células estromais da medula óssea de um camundongo (C57BL/6J × C3H/HeJ)F1. Essas células estromais são componentes essenciais do microambiente da medula óssea e desempenham um papel significativo no suporte à hematopoiese. As células M2-10B4 são particularmente valiosas para pesquisas focadas nas interações entre células estromais e hematopoiéticas, pois podem sustentar tanto a mielopoiese humana quanto a murina em cultura de longo prazo. Além disso, essas células podem sustentar in vitro certas linhagens de células pré-B dependentes de células estromais murinas, tornando-as uma ferramenta versátil na pesquisa hematopoiética.

As células M2-10B4 expressam importantes componentes da matriz extracelular, como a laminina e o colágeno IV, que contribuem para sua capacidade de sustentar células hematopoiéticas. No entanto, elas não expressam colágeno I nem fator VIII, o que as distingue de outras linhagens de células estromais. A presença de laminina e colágeno IV é fundamental para a manutenção do microambiente da medula óssea, influenciando a adesão celular, a diferenciação e as vias de sinalização. Os pesquisadores frequentemente utilizam a linhagem celular M2-10B4 em sistemas de cocultura para explorar os efeitos das células estromais no comportamento dos progenitores hematopoiéticos, particularmente no contexto da fisiologia da medula óssea e de modelos de doenças.

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

Organism Mouse**Tissue** Medula óssea**Synonyms** M210B4**Características****Breed/Subspecies** C57BL/6J x C3H/HeJ**Age** Não especificado**Gender** Mulher**Morphology** Semelhante a fibroblastos**Cell type** Fibroblasto**Growth properties** Aderente

Células M2-10B4 | 400428**Dados regulatórios****Citation** M2-10B4 (número de catálogo da Cytion 400428)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5794**Dados biomoleculares****Products** Laminina, colágeno IV (colágeno I(-), fator VIII(-).**Manuseio****Culture Medium** RPMI 1640, com 2,0 mM de glutamina estável e 2,0 g/L de NaHCO₃ (número de artigo da Cytion: 820700a)**Supplements** Adicione 10% de FBS ao meio**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as 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 o descongelamento.

Células M2-10B4 | 400428

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Células M2-10B4 | 400428

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.