

Клетки OP9 | 305174

Обща информация

Description

Клетъчната линия OP9, стромална клетъчна линия, получена от калвариите на мишки op/op, има мутация, която води до липса на фактор, стимулиращ колонии на макрофагите (M-CSF), който е критичен цитокин, участващ в диференциацията, оцеляването и функцията на различни клетъчни типове, включително макрофаги и остеокласти.

Клетките OP9 се използват широко в областта на изследванията на хемопоезата като хранващи слоеве в системи за ко-култивиране, за да подпомогнат диференциацията и експанзията както на хемopoетични стволови клетки (ХСК), така и на ембрионални стволови клетки (ЕСК). Тези системи за съвместно култивиране улесняват изследването на пътищата на хемopoетична диференциация, като позволиха на МСК да се диференцират в еритроидни клетки, еритробласти и червени кръвни клетки за възрастни, както и в остеоцити, хондроцити, миоцити, теноцити и адипоцити. Подкрепящата роля на клетките на OP9 в тези системи се дължи на способността им да създават благоприятна микро среда, богата на цитокини и растежни фактори, които са от съществено значение за пролиферацията на стволовите клетки и специфичната диференциация на линиите.

Освен това клетъчната линия OP9 е от съществено значение за изучаване на реакцията на левкоцитите и развитието на имунни клетки, като например клетките естествени убийци (NK), което показва полезността на мишката линия OP9 в имунологичните изследвания. Секреторните фактори, произведени от клетките на OP9, включително растежни фактори като bFGF, IGF-1, IL-3, PDGF-BB, TGF- β 1 и TGF- β 3, играят решаваща роля в процесите на клетъчна миграция и диференциация.

Клетките OP9 имат фибробластна форма, характеризираща се с вретеновидна, плоска морфология. Тази морфологична особеност е типична за мезенхимните стромални клетки, които са известни с поддържащите си функции в микро средата на костния мозък.

Въпреки големия си потенциал клетките OP9 имат ограничения, дължащи се на тяхната немурнализирана природа, което ограничава използването им до краткосрочни и малки проекти, подчертавайки необходимостта от внимателно планиране и обмисляне на експерименталните проекти.

Organism Мишка

Tissue Костен мозък, строма

Synonyms OP-9

Характеристики

Breed/Subspecies (C57BL/6 x C3H) F2-op/op

Age Ембрион

Morphology Подобни на фибробласти

Клетки OP9 | 305174

Growth properties

Придържаци се

Регулаторни данни

Citation OP9 (каталожен номер 305174 на Cytion)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4398

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium Alpha MEM, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w/o: Рибонуклеозиди, w/o: Дезоксирибонуклеозиди, w: 1,0 mM Натриев пируват, w: 2,2 g/L NaHCO₃**Supplements** Допълнете средата с 20% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.**Fluid renewal** 2 до 3 пъти седмично**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки OP9 | 305174

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки OP9 | 305174

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.