

Buňky OP9 | 305174

Obecné informace

Description

Buněčná linie OP9, stromální buněčná linie odvozená z kalvárií myší op/op, má mutaci, která vede k nedostatku faktoru stimulujícího kolonie makrofágů (M-CSF), což je kritický cytokin podílející se na diferenciaci, přežívání a funkci různých typů buněk, včetně makrofágů a osteoklastů.

Buňky OP9 se hojně používají v oblasti výzkumu krvetvorby jako napájecí vrstvy v systémech ko-kultivací k podpoře diferenciaci a expanze jak hematopoetických kmenových buněk (HSC), tak embryonálních kmenových buněk (ESC). Tyto kokultivační systémy usnadnily studium hematopoetických diferenciacních drah a umožnily MSC diferencovat v dospělé erytroidní buňky, erytroblasty a červené krvinky a osteocyty, chondrocyty, myocyty, tenocyty a adipocyty. Podpůrná úloha buněk OP9 v těchto systémech se připisuje jejich schopnosti vytvářet příznivé mikroprostředí bohaté na cytokiny a růstové faktory nezbytné pro proliferaci kmenových buněk a diferenciaci specifickou pro danou linii.

Kromě toho je buněčná linie OP9 užitečná při studiu reakce leukocytů a vývoje imunitních buněk, jako jsou přirozené zabíječské buňky (NK), což dokazuje užitečnost myší linie OP9 v imunologickém výzkumu. Sekreční faktory produkované buňkami OP9, včetně růstových faktorů, jako jsou bFGF, IGF-1, IL-3, PDGF-BB, TGF-β1 a TGF-β3, hrají klíčovou roli v procesech migrace a diferenciaci buněk.

Buňky OP9 vykazují vzhled podobný fibroblastům, charakterizovaný plochou morfologií ve tvaru vřetene. Tento morfologický rys je typický pro mezenchymální stromální buňky, které jsou známé svými podpůrnými funkcemi v mikroprostředí kostní dřene.

Navzdory svému rozsáhlému potenciálu mají buňky OP9 omezení vyplývající z jejich neimortalizované povahy, což omezuje jejich použití na krátkodobé a malé projekty, což zdůrazňuje potřebu pečlivého plánování a zvažování při navrhování experimentů.

Organism Myš

Tissue Kostní dřeň, stroma

Synonyms OP-9

Charakteristika

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

Age Embrya

Morphology Fibroblastům podobné

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

Buňky OP9 | 305174

Citation OP9 (katalogové číslo Cytion 305174)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4398**Biomolekulární data****Zpracování****Culture Medium** Alpha MEM, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w/o: Ribonukleosidy, w/o: Deoxyribonukleosidy, w: 1,0 mM Pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO₃**Supplements** Doplňte médium o 20 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** 1:2 až 1:4**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryem.

Buňky OP9 | 305174

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.**Flask Coating**

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky OP9 | 305174

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.