

Κύτταρα OP9 | 305174

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά OP9, μια σειρά στρωματικών κυττάρων που προέρχεται από τα καλυβίδια ποντικών op/op, έχει μια μετάλλαξη που οδηγεί σε έλλειψη του παράγοντα διέγερσης αποικιών μακροφάγων (M-CSF), ο οποίος είναι μια κρίσιμη κυτταροκίνη που εμπλέκεται στη διαφοροποίηση, την επιβίωση και τη λειτουργία διαφόρων κυτταρικών τύπων, συμπεριλαμβανομένων των μακροφάγων και των οστεοκλαστών.

Τα κύτταρα OP9 έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς στον τομέα της έρευνας της αιμοποίησης ως στρώματα τροφοδοσίας σε συστήματα συγκαλλιέργειας για την υποστήριξη της διαφοροποίησης και της επέκτασης τόσο των αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων (HSC) όσο και των εμβρυϊκών βλαστικών κυττάρων (ESC). Αυτά τα συστήματα συγκαλλιέργειας έχουν διευκολύνει τη μελέτη των μονοπατιών αιμοποιητικής διαφοροποίησης, επιτρέποντας στα MSCs να διαφοροποιηθούν σε ενήλικα ερυθροειδή κύτταρα, ερυθροβλάστες και ερυθρά αιμοσφαίρια και σε οστεοκύτταρα, χονδροκύτταρα, μυοκύτταρα, τενοκύτταρα και λιποκύτταρα. Ο υποστηρικτικός ρόλος των κυττάρων OP9 σε αυτά τα συστήματα αποδίδεται στην ικανότητά τους να παράγουν ένα ευνοϊκό μικροπεριβάλλον πλούσιο σε κυτταροκίνες και αυξητικούς παράγοντες που είναι απαραίτητοι για τον πολλαπλασιασμό των βλαστικών κυττάρων και τη διαφοροποίηση σε συγκεκριμένες γενεαλογικές γραμμές.

Επιπλέον, η σειρά κυττάρων OP9 είναι σημαντική για τη μελέτη της αντίδρασης των λευκοκυττάρων και την ανάπτυξη ανοσοποιητικών κυττάρων όπως τα κύτταρα φυσικών δολοφόρων (NK), αποδεικνύοντας τη χρησιμότητα της σειράς ποντικών OP9 στην ανοσολογική έρευνα. Οι εκκριτικοί παράγοντες που παράγονται από τα κύτταρα OP9, συμπεριλαμβανομένων των αυξητικών παραγόντων όπως οι bFGF, IGF-1, IL-3, PDGF-BB, TGF-β1 και TGF-β3, διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στις διαδικασίες κυτταρικής μετανάστευσης και διαφοροποίησης.

Τα κύτταρα OP9 παρουσιάζουν μια εμφάνιση που μοιάζει με ινοβλάστη, η οποία χαρακτηρίζεται από ατρακτοειδή, επίπεδη μορφολογία. Αυτό το μορφολογικό χαρακτηριστικό είναι χαρακτηριστικό των μεσεγχυματικών στρωματικών κυττάρων, τα οποία είναι γνωστά για τις υποστηρικτικές τους λειτουργίες στο μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών.

Παρά τις τεράστιες δυνατότητές τους, τα κύτταρα OP9 έχουν περιορισμούς λόγω της μη αθανασισμένης φύσης τους, η οποία περιορίζει τη χρήση τους σε βραχυπρόθεσμα και μικρής κλίμακας έργα, υπογραμμίζοντας την ανάγκη προσεκτικού σχεδιασμού και εξέτασης των πειραματικών σχεδίων.

Organism Ποντίκι

Tissue Μυελός των οστών, στρώμα

Synonyms OP-9

Χαρακτηριστικά

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

Age Έμβρυο

Κύτταρα OP9 | 305174

Morphology Ινοβλάστες που μοιάζουν με ινοβλάστες

Growth properties Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation OP9 (αριθμός καταλόγου Cytion 305174)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_4398

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium Alpha MEM, w: 2,0 mM σταθερή γλουταμίνη, w/o: Ριβονουκλεοζίτες, w/o: Δεοξυριβονουκλεοζίτες, w: 1,0 mM Πυρρυνικό νάτριο, w: 2,2g/L NaHCO₃

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 20% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Split ratio 1:2 έως 1:4

Fluid renewal 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Κύτταρα OP9 | 305174**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Κύτταρα OP9 | 305174

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.