

OP9 rakud | 305174

Üldine teave

Description

OP9 rakuliinil, op/op-hiirte vasikate rakuliinil, on mutatsioon, mis põhjustab makrofaagide kolooniaid stimuleeriva faktori (M-CSF) puudumist, mis on kriitiline tsütokiin, mis on seotud erinevate rakutüüpide, sealhulgas makrofaagide ja osteoklastide diferentseerumise, ellujäämise ja funktsiooniga.

OP9 rakke on laialdaselt kasutatud hematopoesia uurimise valdkonnas söödakihina ko-kultuurisüsteemides, et toetada nii hematopoeetiliste tüvirakkude (HSC) kui ka embrüonaalsete tüvirakkude (ESC) diferentseerumist ja ekspansiooni. Need ko-kultuurisüsteemid on hõlbustanud vereloome diferentseerumisradade uurimist, võimaldades MSC-del diferentseeruda täiskasvanud erütrooidseteks rakkudeks, erütroblastideks ja punasteks vererakkudeks ning osteotsüütideks, kondrotsüütideks, müotsüütideks, tenotsüütideks ja adipotsüütideks. OP9 rakkude toetav roll nendes süsteemides on tingitud nende võimest toota soodsat mikrokeskkonda, mis on rikas tsütokiinide ja kasvufaktorite poolest, mis on olulised tüvirakkude proliferatsiooniks ja liinispetsiifiliseks diferentseerumiseks.

Lisaks sellele on OP9 rakuliin oluline leukotsüütide reaktsiooni ja selliste immuunrakkude nagu loomulikud tapjarakud (NK) arengu uurimisel, mis näitab OP9 hiireliini kasulikkust immunoloogilistes uuringutes. OP9 rakkude poolt toodetavad sekretoorsed faktorid, sealhulgas kasvufaktorid nagu bFGF, IGF-1, IL-3, PDGF-BB, TGF- β 1 ja TGF- β 3, mängivad kriitilist rolli rakkude migratsiooni- ja diferentseerumisprotsessides.

OP9 rakkudel on fibroblastide sarnane välimus, mida iseloomustab spindlikujuline, lame morfoloogia. See morfoloogiline omadus on tüüpiline mesenhüümsetele stroomirakkudele, mis on tuntud oma toetavate funktsioonide poolest luuüdi mikrokeskkonnas.

Vaatamata nende suurele potentsiaalile on OP9 rakkudel piirangud, mis tulenevad nende mittemortaliseeritud olemusest, mis piirab nende kasutamist lühiajaliste ja väikesemahuliste projektidega, rõhutades vajadust hoolikalt planeerida ja kaaluda eksperimentaalseid kavasad.

Organism Hiir

Tissue Luuüdi, strooma

Synonyms OP-9

Omadused

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

Age Embrüo

Morphology Fibroblastilaadsed

Growth properties Kinnipeetav

OP9 rakud | 305174

Regulatiivsed andmed

Citation	OP9 (Cytioni katalooginumber 305174)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4398

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium	Alpha MEM, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w/o: Ribonukleosiidid, w/o: Deoksüribonukleosiidid, w: 1,0 mM naatriumpüruvaat, w: 2,2g/L NaHCO ₃
Supplements	Täiendada keskkonda 20% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspendeerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Split ratio	1:2 kuni 1:4
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

OP9 rakud | 305174

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

OP9 rakud | 305174

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.