

OP9 sejtek | 305174

Általános információk

Description

Az OP9 sejtvonal, az op/op egerek calvariae-jából származó stromasejtvonal olyan mutációval rendelkezik, amely a makrofág kolóniát stimuláló faktor (M-CSF) hiányához vezet, amely egy kritikus citokin, amely részt vesz a különböző sejtípusok, köztük a makrofágok és az oszteoklasztok differenciálódásában, túlélésében és működésében.

Az OP9 sejteket széles körben használják a vérképzőszervi kutatások területén, mint feeder rétegeket a ko-kultúras rendszerekben, hogy támogassák mind a vérképző őssejtek (HSC), mind az embrionális őssejtek (ESC) differenciálódását és terjeszkedését. Ezek a ko-kultúras rendszerek megkönnyítették a vérképzőszervi differenciálódási útvonalak tanulmányozását, lehetővé téve az MSC-k számára, hogy felnőtt erythroid sejtekké, erythroblastokká és vörösvértestekké, valamint osteocitákká, chondrocitákká, myocitákká, tenocitákká és adipocitákká differenciálódjanak. Az OP9 sejtek támogató szerepe ezekben a rendszerekben annak tulajdonítható, hogy képesek az őssejtek proliferációjához és a vonal-specifikus differenciálódáshoz nélkülözhetetlen citokinekből és növekedési faktorokból gazdag, kedvező mikrokozmoszt létrehozni.

Továbbá az OP9 sejtvonal fontos szerepet játszik a leukocita reakció és az immunsejtek, például a természetes ölősejtek (NK) fejlődésének tanulmányozásában, ami bizonyítja az OP9 egérvonal hasznosságát az immunológiai kutatásban. Az OP9 sejtek által termelt szekréciós faktorok, köztük olyan növekedési faktorok, mint a bFGF, IGF-1, IL-3, PDGF-BB, TGF- β 1 és TGF- β 3, kritikus szerepet játszanak a sejtek migrációs és differenciálódási folyamataiban.

Az OP9 sejtek fibroblaszt-szerű megjelenést mutatnak, amelyet orsó alakú, lapos morfológia jellemez. Ez a morfológiai tulajdonság jellemző a mesenchymális stróma sejtekre, amelyek a csontvelő mikrokozmoszt betöltött támogató funkcióikról ismertek.

Hatalmas potenciáljuk ellenére az OP9 sejtek nem halhatatlan természetük miatt korlátokba ütköznek, ami rövid távú és kis léptékű projektekre korlátozza felhasználásukat, kiemelve a gondos tervezés és megfontolás szükségességét a kísérleti tervekben.

Organism Egér

Tissue Csontvelő, stroma

Synonyms OP-9

Jellemzők

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

Age Embrió

Morphology Fibroblaszt-szerű

OP9 sejtek | 305174

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation OP9 (Cytion katalógusszám: 305174)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_4398

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium Alpha MEM, w: 2,0 mM stabil glutamin, w/o: Ribonukleozidok, w/o: Dezoxiribonukleozidok, w: 1,0 mM nátrium-piruvát, w: 2,2 g/l NaHCO₃

Supplements A táptalajt 20% FBS-szel egészítsük ki

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadéokban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Split ratio 1:2-1:4

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

OP9 sejtek | 305174

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

OP9 sejtek | 305174

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.