

Cellule OP9 | 305174

Informazioni generali

Description

La linea cellulare OP9, una linea cellulare stromale derivata dalle calvarie di topi op/op, presenta una mutazione che porta alla mancanza del fattore di stimolazione delle colonie macrofagiche (M-CSF), che è una citochina critica coinvolta nella differenziazione, nella sopravvivenza e nella funzione di vari tipi di cellule, compresi macrofagi e osteoclasti.

Le cellule OP9 sono state ampiamente utilizzate nel campo della ricerca sull'ematopoiesi come strati nutritivi in sistemi di co-cultura per supportare la differenziazione e l'espansione di cellule staminali ematopoietiche (HSC) e di cellule staminali embrionali (ESC). Questi sistemi di co-cultura hanno facilitato lo studio delle vie di differenziazione ematopoietica, consentendo alle MSC di differenziarsi in cellule eritroidi adulte, eritroblasti, globuli rossi e osteociti, condrociti, miociti, tenociti e adipociti. Il ruolo di supporto delle cellule OP9 in questi sistemi è attribuito alla loro capacità di produrre un microambiente favorevole, ricco di citochine e fattori di crescita essenziali per la proliferazione delle cellule staminali e la differenziazione specifica del lignaggio.

Inoltre, la linea cellulare OP9 è fondamentale per studiare la reazione dei leucociti e lo sviluppo di cellule immunitarie come le cellule natural killer (NK), dimostrando l'utilità della linea di topi OP9 nella ricerca immunologica. I fattori secretori prodotti dalle cellule OP9, tra cui fattori di crescita come bFGF, IGF-1, IL-3, PDGF-BB, TGF- β 1 e TGF- β 3, svolgono un ruolo fondamentale nei processi di migrazione e differenziazione cellulare.

Le cellule OP9 presentano un aspetto simile a quello dei fibroblasti, caratterizzato da una morfologia piatta e a forma di fuso. Questa caratteristica morfologica è tipica delle cellule stromali mesenchimali, note per le loro funzioni di supporto nel microambiente del midollo osseo.

Nonostante il loro vasto potenziale, le cellule OP9 presentano limitazioni dovute alla loro natura non immortalata, che ne limita l'uso a progetti a breve termine e su piccola scala, sottolineando la necessità di un'attenta pianificazione e considerazione nei disegni sperimentali.

Organism Mouse

Tissue Midollo osseo, stroma

Synonyms OP-9

Caratteristiche

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

Age Embrione

Morphology Simile a un fibroblasto

Growth properties Aderente

Cellule OP9 | 305174

Dati normativi

Citation	OP9 (numero di catalogo Cytion 305174)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4398

Dati biomolecolari

Manipolazione

Culture Medium	Alpha MEM, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w/o: Ribonucleosidi, w/o: Desossiribonucleosidi, w: 1,0 mM Sodio piruvato, w: 2,2g/L NaHCO ₃
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 20% di FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
Split ratio	da 1:2 a 1:4
Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule OP9 | 305174

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Per un attacco e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule OP9 | 305174

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.