

OP9 ląstelės | 305174

Bendra informacija

Description

OP9 ląstelių linija, stromos ląstelių linija, gauta iš op/op pelių kalvarių, turi mutaciją, dėl kurios trūksta makrofagų kolonijas stimuliuojančio faktoriaus (M-CSF), kuris yra labai svarbus citokinas, dalyvaujantis įvairių tipų ląstelių, įskaitant makrofagus ir osteoklastus, diferenciacijoje, išlikime ir veikloje.

OP9 ląstelės plačiai naudojamos kraujodaros tyrimuose kaip maitinamieji sluoksniai bendrakultūrinėse sistemose kraujodaros kamieninėms ląstelėms ir embrioninėms kamieninėms ląstelėms diferencijuotis ir plėstis. Šios bendrakultūrinės sistemos palengvino kraujodaros diferenciacijos būdų tyrimus, suteikdamos galimybę MSC diferencijuotis į suaugusiųjų eritroidines ląsteles, eritroblastus ir eritrocitus bei osteocitus, chondrocitus, miocitus, tenocitus ir adipocitus. OP9 ląstelių pagalbiniis vaidmuo šiose sistemose siejamas su jų gebėjimu sukurti palankią mikroaplinką, kurioje gausu citokinų ir augimo veiksnių, būtinų kamieninių ląstelių proliferacijai ir linijinei diferenciacijai.

Be to, OP9 ląstelių linija padeda tirti leukocitų reakciją ir imuninių ląstelių, tokių kaip natūraliosios žudikės (NK) ląstelės, vystymąsi, o tai rodo OP9 pelių linijos naudingumą imunologiniuose tyrimuose. OP9 ląstelių gaminami sekretiniai veiksniai, įskaitant tokius augimo veiksnius kaip bFGF, IGF-1, IL-3, PDGF-BB, TGF-β1 ir TGF-β3, atlieka lemiamą vaidmenį ląstelių migracijos ir diferenciacijos procesuose.

OP9 ląstelės yra panašios į fibroblastus, joms būdinga verpstės formos plokščia morfologija. Šis morfologinis bruožas būdingas mezenchiminėms stromos ląstelėms, kurios žinomos dėl savo palaikomųjų funkcijų kaulų čiulpų mikroaplinkoje.

Nepaisant didžiulio OP9 ląstelių potencialo, jos turi apribojimų dėl savo neimortalizuotos prigimties, todėl jas galima naudoti tik trumpalaikiams ir nedidelės apimties projektams, o tai rodo, kad reikia kruopščiai planuoti ir apsvarstyti eksperimentų planus.

Organism Pelė

Tissue Kaulų čiulpai, stromos

Synonyms OP-9

Charakteristikos

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

Age Embrionas

Morphology Į fibroblastus panašus

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

OP9 ląstelės | 305174

Citation	OP9 (Cytion katalogo numeris 305174)
-----------------	--------------------------------------

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	10090
-------------------	-------

CellosaurusAccession	CVCL_4398
-----------------------------	-----------

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium	Alfa MEM, w: 2,0 mM stabilus glutaminas, w/o: Ribonukleozidai, w/o: Deoksiribonukleozidai, w: 1,0 mM natrio piruvatas, w: 2,2 g/l NaHCO ₃
-----------------------	--

Supplements	Papildykite terpę 20 % FBS
--------------------	----------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
---------------------	---

Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
----------------------	------------------------

Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.
----------------------	---

OP9 ląstelės | 305174

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

OP9 ląstelės | 305174

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.