

## OP9 šūnas | 305174

## Vispārīga informācija

## Description

OP9 šūnu līnijai - stromālo šūnu līnijai, kas iegūta no op/op peļu kalvārijām, ir mutācija, kuras rezultātā trūkst makrofāgu koloniju stimulējošā faktora (M-CSF), kas ir būtisks citokīns, kurš ir iesaistīts dažādu šūnu tipu, tostarp makrofāgu un osteoklastu, diferenciācijā, izdzīvošanā un funkcijās.

OP9 šūnas ir plaši izmantotas hematopoēzes pētniecībā kā barojošie slāņi kopkultūru sistēmās, lai atbalstītu gan hematopoētisko cilmes šūnu (HSC), gan embrionālo cilmes šūnu (ESC) diferenciāciju un paplašināšanos. Šīs kopkultūru sistēmas ir atvieglojušas hematopoētiskās diferenciācijas ceļu izpēti, ļaujot MSC diferencēties pieaugušās eritroidās šūnās, eritroblastos un eritrocītos, kā arī osteocītos, hondrocītos, miocītos, tenocītos un adipocītos. OP9 šūnu atbalstošā loma šajās sistēmās tiek skaidrota ar to spēju radīt labvēlīgu mikrovidi, kurā ir daudz citokīnu un augšanas faktoru, kas ir būtiski cilmes šūnu proliferācijai un specifiskai diferenciācijai.

Turklāt OP9 šūnu līnija ir noderīga, pētot leukocītu reakciju un tādu imūnšūnu kā dabisko killeršūnu (NK) attīstību, kas pierāda OP9 peļu līnijas lietderību imunoloģiskajos pētījumos. OP9 šūnu producētajiem sekrēcijas faktoriem, tostarp tādiem augšanas faktoriem kā bFGF, IGF-1, IL-3, PDGF-BB, TGF-β1 un TGF-β3, ir būtiska nozīme šūnu migrācijas un diferenciācijas procesos.

OP9 šūnām piemīt fibroblastiem līdzīgs izskats, kam raksturīga vārpstas formas, plakana morfolģija. Šī morfolģiskā iezīme ir raksturīga mezenhīmiskajām stromālajām šūnām, kas ir pazīstamas ar savām atbalsta funkcijām kaulu smadzeņu mikrovidē.

Neraugoties uz OP9 šūnu plašo potenciālu, tām ir ierobežojumi, jo tās nav nemortalizētas, kas ierobežo to izmantošanu īstermiņa un neliela mēroga projektos, uzsverot nepieciešamību rūpīgi plānot un apsvērt eksperimentālo projektu izstrādi.

**Organism** Pele

**Tissue** Kaulu smadzenes, stromas

**Synonyms** OP-9

## Raksturojums

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

**Age** Embrijs

**Morphology** Fibroblastiem līdzīgs

**Growth properties** Adherent

## Normatīvie dati

## OP9 šūnas | 305174

**Citation** OP9 (Cytion kataloga numurs 305174)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_4398**Biomolekulārie dati****Darbs ar****Culture Medium** Alpha MEM, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w/o: Ribonukleozīdi, w/o: Deoksiribonukleozīdi, w: 1,0 mM nātrijs pīruvāts, w: 2,2 g/l NaHCO<sub>3</sub>**Supplements** Papildināt barotni ar 20% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

## OP9 šūnas | 305174

### Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

### Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

### Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**OP9 šūnas | 305174**

**Shipping  
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage  
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

**Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA**

**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.