

Komórki OP9 | 305174**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa OP9, linia komórek zrębu pochodząca z kalwarii myszy op/op, ma mutację, która prowadzi do braku czynnika stymulującego kolonie makrofagów (M-CSF), który jest krytyczną cytokiną zaangażowaną w różnicowanie, przeżycie i funkcję różnych typów komórek, w tym makrofagów i osteoklastów.

Komórki OP9 były szeroko stosowane w dziedzinie badań nad hematopoezą jako warstwy zasilające w systemach ko-kultury w celu wspierania różnicowania i ekspansji zarówno hematopoetycznych komórek macierzystych (HSC), jak i embrionalnych komórek macierzystych (ESC). Systemy te ułatwiły badanie szlaków różnicowania hematopoetycznego, umożliwiając MSC różnicowanie się w dorosłe komórki erytroidalne, erytroblasty i czerwone krwinki oraz osteocyty, chondrocyty, miocyty, tenocyty i adipocyty. Wspomagająca rola komórek OP9 w tych systemach jest przypisywana ich zdolności do wytwarzania sprzyjającego mikrośrodowiska bogatego w cytokiny i czynniki wzrostu niezbędne do proliferacji komórek macierzystych i różnicowania specyficznego dla linii.

Co więcej, linia komórkowa OP9 odgrywa kluczową rolę w badaniu reakcji leukocytów i rozwoju komórek odpornościowych, takich jak komórki NK (natural killer), demonstrując użyteczność mysiej linii OP9 w badaniach immunologicznych. Czynniki wydzielnicze produkowane przez komórki OP9, w tym czynniki wzrostu, takie jak bFGF, IGF-1, IL-3, PDGF-BB, TGF- β 1 i TGF- β 3, odgrywają kluczową rolę w procesach migracji i różnicowania komórek.

Komórki OP9 wykazują wygląd podobny do fibroblastów, charakteryzujący się wrzecionowatą, płaską morfologią. Ta cecha morfologiczna jest typowa dla mezenchymalnych komórek zrębowych, które są znane ze swoich funkcji wspomagających w mikrośrodowisku szpiku kostnego.

Pomimo ogromnego potencjału, komórki OP9 mają ograniczenia wynikające z ich nieimmortalizowanego charakteru, co ogranicza ich wykorzystanie do krótkoterminowych projektów na małą skalę, podkreślając potrzebę starannego planowania i rozważenia w projektach eksperymentalnych.

Organism Mysz**Tissue** Szpik kostny, zrąb**Synonyms** OP-9**Charakterystyka****Breed/Subspecies** (C57BL/6 x C3H) F2-op/op**Age** Zarodek**Morphology** Podobny do fibroblastów**Growth properties** Adherent

Komórki OP9 | 305174**Dane regulacyjne**

Citation	OP9 (numer katalogowy Cytion 305174)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4398

Dane biomolekularne**Obsługa**

Culture Medium	Alpha MEM, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w/o: Rybonukleozydy, w/o: Deoksyrybonukleozydy, w: 1.0 mM Pirogronian sodu, w: 2.2g/L NaHCO ₃
Supplements	Uzupełnić podłoże 20% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	1:2 do 1:4
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki OP9 | 305174

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki OP9 | 305174

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.