

Bunky OP9 | 305174**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia OP9, stromálna bunková línia odvodená z kalvárií op/op myší, má mutáciu, ktorá vedie k nedostatku faktora stimulujúceho kolónie makrofágov (M-CSF), čo je kritický cytokín, ktorý sa podieľa na diferenciácii, prežívaní a funkcii rôznych typov buniek vrátane makrofágov a osteoklastov.

Bunky OP9 sa vo veľkej miere používajú v oblasti výskumu krvotvorby ako napájacie vrstvy v kokultúrnych systémoch na podporu diferenciácie a expanzie hematopoetických kmeňových buniek (HSC) a embryonálnych kmeňových buniek (ESC). Tieto kokultúrne systémy uľahčili štúdium hematopoetických diferenciačných dráh a umožnili MSC diferencovať sa na dospelé erytroidné bunky, erytroblasty a červené krvinky a osteocyty, chondrocyty, myocyty, tenocyty a adipocyty. Podporná úloha buniek OP9 v týchto systémoch sa pripisuje ich schopnosti vytvárať priaznivé mikroprostredie bohaté na cytokíny a rastové faktory nevyhnutné pre proliferáciu kmeňových buniek a diferenciáciu špecifickú pre jednotlivé línie.

Okrem toho je bunková línia OP9 užitočná pri štúdiu reakcie leukocytov a vývoja imunitných buniek, ako sú prirodzené zabíjačské bunky (NK), čo dokazuje užitočnosť myšej línie OP9 v imunologickom výskume. Sekrečné faktory produkované bunkami OP9 vrátane rastových faktorov, ako sú bFGF, IGF-1, IL-3, PDGF-BB, TGF- β 1 a TGF- β 3, zohrávajú rozhodujúcu úlohu v procesoch migrácie a diferenciácie buniek.

Bunky OP9 vykazujú vzhľad podobný fibroblastom, charakterizovaný vretenovitou, plochou morfológiou. Tento morfológický znak je typický pre mezenchymálne stromálne bunky, ktoré sú známe svojimi podpornými funkciami v mikroprostredí kostnej drene.

Napriek svojmu obrovskému potenciálu majú bunky OP9 obmedzenia vyplývajúce z ich neimortalizovanej povahy, čo obmedzuje ich použitie na krátkodobé a malé projekty, čo zdôrazňuje potrebu starostlivého plánovania a zvažovania pri navrhovaní experimentov.

Organism Myš**Tissue** Kostná dreň, stróma**Synonyms** OP-9**Charakteristika****Breed/Subspecies** (C57BL/6 x C3H) F2-op/op**Age** Embryo**Morphology** Fibroblastom podobné**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje**

Bunky OP9 | 305174**Citation** OP9 (katalógové číslo Cytion 305174)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4398**Biomolekulárne údaje****Spracovanie****Culture Medium** Alpha MEM, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w/o: Ribonukleozidy, w/o: Deoxyribonukleozidy, w: 1,0 mM Pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO₃**Supplements** Doplňte médium o 20 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky OP9 | 305174

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky OP9 | 305174

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.