

Celice OP9 | 305174

Splošne informacije

Description

Celična linija OP9, stromalna celična linija, pridobljena iz kalvarije miši op/op, ima mutacijo, ki povzroča pomanjkanje makrofage kolonije stimulirajočega faktorja (M-CSF), ki je ključni citokin, vključen v diferenciacijo, preživetje in delovanje različnih vrst celic, vključno z makrofagi in osteoklasti.

Celice OP9 se pogosto uporabljajo na področju raziskav hematopoeze kot napajalne plasti v sistemih ko-kulture za podporo diferenciacije in širjenja hematopoetskih matičnih celic (HSC) in embrionalnih matičnih celic (ESC). Ti sistemi za so-kultiviranje so olajšali preučevanje hematopoetskih diferenciacijskih poti, saj MSC omogočajo diferenciacijo v odrasle eritroidne celice, eritroblaste in eritrocite ter osteocite, hondrocite, miocite, tenocite in adipocite. Podporno vlogo celic OP9 v teh sistemih pripisujejo njihovi sposobnosti ustvarjanja ugodnega mikrookolja, bogatega s citokini in rastnimi dejavniki, ki so bistveni za proliferacijo matičnih celic in diferenciacijo po posameznih linijah.

Poleg tega je celična linija OP9 pomembna za preučevanje reakcije levkocitov in razvoja imunskih celic, kot so naravne celice ubijalke (NK), kar dokazuje uporabnost mišje linije OP9 v imunoloških raziskavah. Dejavniki izločanja, ki jih proizvajajo celice OP9, vključno z rastnimi dejavniki, kot so bFGF, IGF-1, IL-3, PDGF-BB, TGF- β 1 in TGF- β 3, imajo ključno vlogo pri procesih migracije in diferenciacije celic.

Celice OP9 so podobne fibroblastom, za katere je značilna vretenasta in ploščata morfoloija. Ta morfološka lastnost je značilna za mezenhimske stromalne celice, ki so znane po svojih podpornih funkcijah v mikrookolju kostnega mozga.

Kljub velikemu potencialu imajo celice OP9 omejitve zaradi svoje neimortalizirane narave, kar omejuje njihovo uporabo na kratkoročne in majhne projekte, kar poudarja potrebo po skrbnem načrtovanju in premisleku pri načrtovanju poskusov.

Organism Miška

Tissue Kostni mozeg, stroma

Synonyms OP-9

Značilnosti

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

Age Zarodek

Morphology Fibroblastom podobni

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Celice OP9 | 305174**Citation** OP9 (katalogška številka Cytion 305174)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4398**Biomolekularni podatki****Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** Alpha MEM, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w/o: Ribonukleozidi, w/o: NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijev piruvat, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM deoksiribonukleozidi**Supplements** Gojišče dopolnite z 20 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice OP9 | 305174

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice OP9 | 305174

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.