

OP9 Клітини | 305174

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія OP9, стромальна клітинна лінія, отримана з кальварій оперованих мишей, має мутацію, яка призводить до нестачі макрофагального колонієстимулюючого фактора (M-KCF), який є критично важливим цитокином, що бере участь у диференціації, виживанні та функціонуванні різних типів клітин, в тому числі макрофагів та остеокластів.

Клітини OP9 широко використовуються в дослідженнях гемопоезу як живильні шари в системах ко-культури для підтримки диференціації та експансії як гемопоетичних стовбурових клітин (ГСК), так і ембріональних стовбурових клітин (ЕСК). Ці системи спільного культивування сприяли вивченню шляхів гемопоетичної диференціації, дозволяючи МСК диференціюватися в дорослі еритроїдні клітини, еритробласти та еритроцити, а також в остеоцити, хондроцити, міоцити, теноцити та адипоцити. Підтримуюча роль клітин OP9 в цих системах пояснюється їх здатністю створювати сприятливе мікросередовище, багате на цитокіни та фактори росту, необхідні для проліферації стовбурових клітин та їх лінійно-специфічної диференціації.

Крім того, клітинна лінія OP9 є інструментом для вивчення лейкоцитарної реакції та розвитку імунних клітин, таких як природні кілери (NK), що демонструє корисність лінії мишей OP9 в імунологічних дослідженнях. Секреторні фактори, що виробляються клітинами OP9, включаючи фактори росту, такі як bFGF, IGF-1, IL-3, PDGF-BB, TGF- β 1 і TGF- β 3, відіграють важливу роль у процесах міграції та диференціювання клітин.

Клітини OP9 мають фібробластоподібний вигляд, що характеризується веретеноподібною, плоскою морфологією. Ця морфологічна ознака є типовою для мезенхімальних стромальних клітин, які відомі своєю підтримуючою функцією в мікрооточенні кісткового мозку.

Незважаючи на свій величезний потенціал, клітини OP9 мають обмеження через свою неіморталізовану природу, що обмежує їх використання короткостроковими і маломасштабними проектами, підкреслюючи необхідність ретельного планування і врахування в експериментальному дизайні.

Organism Миша

Tissue Кістковий мозок, строма

Synonyms ОП-9

Характеристики

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

Age Ембріон

Morphology Фібробластоподібні

OP9 Клітини | 305174

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation OP9 (номер за каталогом 305174)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_4398

Біомолекулярні дані

Обробка

Culture Medium Альфа MEM, w: 2,0 mM стабільного глутаміну, w/o: Рибонуклеозиди, без вмісту Дезоксирибонуклеозиди, w: 1,0 mM Піруват натрію, w: 2,2 г/л NaHCO₃

Supplements Додайте до середовища 20% FBS

Dissociation Reagent Аккутаза

Subculturing Видаліть старе середовище з прилиплених клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Split ratio від 1:2 до 1:4

Fluid renewal 2-3 рази на тиждень

Freeze medium Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

OP9 Клітини | 305174

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

OP9 Клітини | 305174

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.