

OP9-celler | 305174

Generel information

Description

OP9-cellelinjen, en stromal cellelinje, der stammer fra calvariae fra op/op-mus, har en mutation, der fører til mangel på makrofagkolonistimulerende faktor (M-CSF), som er et kritisk cytokin, der er involveret i differentiering, overlevelse og funktion af forskellige celletyper, herunder makrofager og osteoklaster.

OP9-celler er blevet brugt i vid udstrækning inden for forskning i hæmatopoiese som feederlag i co-kultursystemer for at understøtte differentiering og ekspansion af både hæmatopoietiske stamceller (HSC'er) og embryonale stamceller (ESC'er). Disse samdyrkningssystemer har lettet studiet af hæmatopoietiske differentieringsveje og gjort det muligt for MSC'er at differentiere til voksne erythroidceller, erythroblaster og røde blodlegemer samt osteocytter, chondrocytter, myocytter, tenocytter og adipocytter. OP9-cellernes støttende rolle i disse systemer tilskrives deres evne til at producere et gunstigt mikromiljø, der er rigt på cytokiner og vækstfaktorer, som er afgørende for stamcelleproliferation og linjespecifik differentiering.

Desuden er OP9-cellelinjen medvirkende til at studere leukocytreaktionen og udviklingen af immunceller såsom naturlige dræberceller (NK-celler), hvilket viser OP9-muselinjens anvendelighed i immunologisk forskning. De sekretoriske faktorer, der produceres af OP9-celler, herunder vækstfaktorer som bFGF, IGF-1, IL-3, PDGF-BB, TGF- β 1 og TGF- β 3, spiller en afgørende rolle i cellemigrations- og differentieringsprocesser.

OP9-celler udviser et fibroblastlignende udseende, der er karakteriseret ved en spindelformet, flad morfologi. Dette morfologiske træk er typisk for mesenkymale stromaceller, som er kendt for deres støttende funktioner i knoglemarvsmikromiljøet.

På trods af deres store potentiale har OP9-celler begrænsninger på grund af deres ikke-udødelige natur, som begrænser deres anvendelse til kortvarige og små projekter, hvilket understreger behovet for omhyggelig planlægning og overvejelse i forsøgsdesign.

Organism Mus

Tissue Knoglemarv, stroma

Synonyms OP-9

Karakteristika

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

Age Embryo

Morphology Fibroblast-lignende

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

OP9-celler | 305174

Citation OP9 (Cytion katalognummer 305174)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4398**Biomolekylære data****Håndtering****Culture Medium** Alpha MEM, m: 2,0 mM stabil glutamin, uden: Ribonukleosider, w/o: Deoxyribonukleosider, w: 1,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2g/L NaHCO₃**Supplements** Suppler mediet med 20% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løse dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Split ratio** 1:2 til 1:4**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

OP9-celler | 305174

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

OP9-celler | 305174

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.