

OP9-Zellen | 305174

Allgemeine Informationen

Description

Die OP9-Zelllinie, eine Stromazelllinie, die aus den Calvarien von op/op-Mäusen gewonnen wird, weist eine Mutation auf, die zu einem Mangel an Makrophagen-Kolonie-stimulierendem Faktor (M-CSF) führt. M-CSF ist ein wichtiges Zytokin, das an der Differenzierung, dem Überleben und der Funktion verschiedener Zelltypen, einschließlich Makrophagen und Osteoklasten, beteiligt ist.

OP9-Zellen wurden in der Hämatopoese-Forschung ausgiebig als Feeder-Layer in Co-Kultur-Systemen verwendet, um die Differenzierung und Expansion von hämatopoetischen Stammzellen (HSCs) und embryonalen Stammzellen (ESCs) zu unterstützen. Diese Co-Kultursysteme haben die Untersuchung der hämatopoetischen Differenzierungswege erleichtert, indem sie die Differenzierung von MSCs in adulte erythroide Zellen, Erythroblasten und rote Blutkörperchen sowie Osteozyten, Chondrozyten, Myozyten, Tenozyten und Adipozyten ermöglichten. Die unterstützende Rolle der OP9-Zellen in diesen Systemen wird auf ihre Fähigkeit zurückgeführt, eine förderliche Mikroumgebung zu schaffen, die reich an Zytokinen und Wachstumsfaktoren ist, die für die Stammzellproliferation und die linienspezifische Differenzierung wichtig sind.

Darüber hinaus ist die OP9-Zelllinie für die Untersuchung der Leukozytenreaktion und der Entwicklung von Immunzellen wie natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) von entscheidender Bedeutung, was den Nutzen der OP9-Mauslinie für die immunologische Forschung belegt. Die von OP9-Zellen produzierten sekretorischen Faktoren, darunter Wachstumsfaktoren wie bFGF, IGF-1, IL-3, PDGF-BB, TGF-β1 und TGF-β3, spielen eine entscheidende Rolle bei Zellmigrations- und Differenzierungsprozessen.

OP9-Zellen weisen ein fibroblastenähnliches Erscheinungsbild auf, das durch eine spindelförmige, flache Morphologie gekennzeichnet ist. Dieses morphologische Merkmal ist typisch für mesenchymale Stromazellen, die für ihre unterstützenden Funktionen in der Mikroumgebung des Knochenmarks bekannt sind.

Trotz ihres enormen Potenzials haben OP9-Zellen aufgrund ihres nicht-immortalisierten Charakters nur begrenzte Möglichkeiten, was ihre Verwendung auf kurzfristige und kleinmaßstäbliche Projekte einschränkt und die Notwendigkeit einer sorgfältigen Planung und Berücksichtigung bei der Versuchsplanung unterstreicht.

Organism Maus

Tissue Knochenmark, Stroma

Synonyms OP-9

Merkmale

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

Age Embryo

Morphology Fibroblastenähnlich

OP9-Zellen | 305174

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

Citation OP9 (Cytion Katalognummer 305174)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_4398

Biomolekulare Daten

Handhabung

Culture Medium Alpha MEM, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, ohne: Ribonukleoside, w/o: Deoxyribonukleoside, w: 1,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO₃

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 20% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Split ratio 1:2 bis 1:4

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

OP9-Zellen | 305174

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

OP9-Zellen | 305174

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.