

## OP9-solut | 305174

## Yleisiä tietoja

## Description

OP9-solulinjalla, joka on op/op-hiirten calvariae-korvakkeista peräisin oleva stroomasolulinja, on mutaatio, joka johtaa makrofagikolonioita stimuloivan tekijän (M-CSF) puuttumiseen. M-CSF on kriittinen sytokiini, joka on mukana erilaisten solutyypin, kuten makrofagien ja osteoklastien, erilaistumisessa, selviytymisessä ja toiminnassa.

OP9-soluja on käytetty laajalti hematopoiesitutkimuksessa syöttökerroksina yhteiskulttuurijärjestelmissä tukemaan sekä hematopoieettisten kantasolujen (HSC) että alkion kantasolujen (ESC) erilaistumista ja laajenemista. Nämä yhteiskulttuurijärjestelmät ovat helpottaneet hematopoieettisten erilaistumisreittien tutkimista, ja niiden avulla MSC:t voivat erilaistua aikuisten erytroidisoluiksi, erytroblasteiksi ja punasoluiksi sekä osteosyyteiksi, kondrosyyteiksi, myosyyteiksi, tenosyyteiksi ja adiposyyteiksi. OP9-solujen tukeva rooli näissä järjestelmissä johtuu niiden kyvystä tuottaa suotuisa mikroympäristö, jossa on runsaasti kantasolujen proliferaatiolle ja linjaspesifiselle erilaistumiselle välttämättömiä sytokiineja ja kasvutekijöitä.

Lisäksi OP9-solulinja on tärkeä leukosyyttien reaktion ja immuunisolujen, kuten luonnollisten tappajasolujen (NK-solujen), kehityksen tutkimisessa, mikä osoittaa OP9-hiirilinjan hyödyllisyyden immunologisessa tutkimuksessa. OP9-solujen tuottamalla erityyppisillä tekijöillä, mukaan lukien kasvutekijät, kuten bFGF, IGF-1, IL-3, PDGF-BB, TGF- $\beta$ 1 ja TGF- $\beta$ 3, on ratkaiseva rooli solujen siirtymis- ja erilaistumisprosesseissa.

OP9-soluilla on fibroblastien kaltainen ulkonäkö, jolle on ominaista karanmuotoinen, litteä morfologia. Tämä morfologinen piirre on tyypillinen mesenkimaalisille stroomaalisille soluille, jotka tunnetaan tukitoiminnoistaan luuytimen mikroympäristössä.

Huolimatta niiden laajasta potentiaalista OP9-soluilla on rajoituksia, jotka johtuvat niiden ei-immortalisoituneesta luonteesta, mikä rajoittaa niiden käytön lyhytaikaisiin ja pienimuotoisiin hankkeisiin, mikä korostaa huolellisen suunnittelun ja harkinnan tarvetta koesuunnitelmissa.

**Organism** Hiiri

**Tissue** Luuydin, strooma

**Synonyms** OP-9

## Ominaisuudet

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

**Age** Alkio

**Morphology** Fibroblastien kaltaiset

**Growth properties** Tarttuva

## OP9-solut | 305174

## Säätelytiedot

<b>Citation</b>	OP9 (Cytionin luettelonumero 305174)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4398

## Biomolekyyli tiedot

## Käsittely

<b>Culture Medium</b>	Alpha MEM, w: 2,0 mM stabiili glutamiini, w/o: Ribonukleosidit, w/o: Deoksiribonukleosidit, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia, w: 2,2g/L NaHCO <sub>3</sub>
<b>Supplements</b>	Täydennetään elatusainetta 20 %:lla FBS:llä
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
<b>Fluid renewal</b>	2-3 kertaa viikossa
<b>Freeze medium</b>	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

## OP9-solut | 305174

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**OP9-solut | 305174**

**Shipping  
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage  
Conditions**

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

**Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA**

**Sterility**

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.