

OP9 Cellen | 305174

Algemene informatie

Description

De OP9-cel lijn, een stromale cel lijn afkomstig van de calvariae van op/op muizen, heeft een mutatie die leidt tot een gebrek aan macrofaagkoloniestimulerende factor (M-CSF), een essentieel cytokine dat betrokken is bij de differentiatie, overleving en functie van verschillende celtypen, waaronder macrofagen en osteoclasten.

OP9-cellen zijn op grote schaal gebruikt bij onderzoek naar hematopoëse als voedingslagen in co-cultuursystemen om de differentiatie en expansie van zowel hematopoëtische stamcellen (HSC's) als embryonale stamcellen (ESC's) te ondersteunen. Deze co-cultuursystemen hebben de studie van hematopoëtische differentiatiepaden vergemakkelijkt, waardoor MSCs konden differentiëren in volwassen erythroïde cellen, erythroblasten en rode bloedcellen en osteocyten, chondrocyten, myocyten, tenocyten en adipocyten. De ondersteunende rol van OP9 cellen in deze systemen wordt toegeschreven aan hun vermogen om een gunstige micro-omgeving te produceren die rijk is aan cytokinen en groeifactoren die essentieel zijn voor stamcelproliferatie en lineage-specifieke differentiatie.

Verder is de OP9 cel lijn instrumenteel in het bestuderen van de leukocytenreactie en de ontwikkeling van immuuncellen zoals natural killer (NK) cellen, wat het nut van de OP9 muis lijn in immunologisch onderzoek aantoont. De secretoire factoren geproduceerd door OP9 cellen, inclusief groeifactoren zoals bFGF, IGF-1, IL-3, PDGF-BB, TGF- β 1 en TGF- β 3, spelen een cruciale rol in cel migratie en differentiatieprocessen.

OP9 cellen vertonen een fibroblastachtig uiterlijk, gekenmerkt door een spoelvormige, platte morfologie. Deze morfologische eigenschap is typerend voor mesenchymale stromale cellen, die bekend staan om hun ondersteunende functies in de beenmergmicro-omgeving.

Ondanks hun enorme potentieel hebben OP9 cellen beperkingen vanwege hun niet-geïmmortaliseerde aard, waardoor ze alleen gebruikt kunnen worden voor kortlopende en kleinschalige projecten.

Organism Muis

Tissue Beenmerg, stroma

Synonyms OP-9

Kenmerken

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

Age Embryo

Morphology Fibroblast-achtige

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

OP9 Cellen | 305174

Citation OP9 (Cytion catalogusnummer 305174)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_4398

Biomoleculaire gegevens

Omgaan met

Culture Medium Alpha MEM, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w/o: Ribonucleosiden, w/o: Deoxyribonucleosiden, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat, w: 2,2g/L NaHCO₃

Supplements Vul het medium aan met 20% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio 1:2 tot 1:4

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

OP9 Cellen | 305174

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

**Freezing
Procedure**

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

**Shipping
Conditions**

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

OP9 Cellen | 305174

**Storage
Conditions**

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.