

OP9-celler | 305174

Generell informasjon

Description

OP9-cellelinjen, en stromal cellelinje avledet fra kalvariene til op/op-mus, har en mutasjon som fører til mangel på makrofagkolonistimulerende faktor (M-CSF), som er et kritisk cytokin som er involvert i differensiering, overlevelse og funksjon av ulike celletyper, inkludert makrofager og osteoklaster.

OP9-celler har blitt mye brukt i forskning på hematopoiese som materlag i samdyrkingssystemer for å støtte differensiering og ekspansjon av både hematopoietiske stamceller (HSC) og embryonale stamceller (ESC). Disse samdyrkingssystemene har gjort det enklere å studere hematopoietiske differensieringsveier, slik at MSC kan differensiere til voksne erytroide celler, erytroblaste og røde blodlegemer samt osteocytter, kondrocytter, myocytter, tenocytter og adipocytter. OP9-cellenes støttende rolle i disse systemene tilskrives deres evne til å produsere et gunstig mikromiljø som er rikt på cytokiner og vekstfaktorer som er essensielle for stamcelleproliferasjon og linjespesifikk differensiering.

OP9-cellelinjen er dessuten viktig for å studere leukocytreaksjonen og utviklingen av immunceller som naturlige dreperceller (NK-celler), noe som demonstrerer OP9-muselinjens nytteverdi i immunologisk forskning. De sekretoriske faktorene som produseres av OP9-celler, inkludert vekstfaktorer som bFGF, IGF-1, IL-3, PDGF-BB, TGF- β 1 og TGF- β 3, spiller en avgjørende rolle i cellemigrasjon og differensieringsprosesser.

OP9-celler har et fibroblastlignende utseende, kjennetegnet av en spindelformet, flat morfologi. Dette morfologiske trekket er typisk for mesenkymale stromaceller, som er kjent for sine støttende funksjoner i benmargens mikromiljø.

Til tross for det store potensialet OP9-celler har, har de begrensninger på grunn av at de ikke er udødeliggjorte, noe som begrenser bruken av dem til kortvarige og småskalaprojekter, noe som understreker behovet for nøye planlegging og overveielse av forsøksdesign.

Organism Mus

Tissue Benmarg, stroma

Synonyms OP-9

Kjennetegn

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

Age Embryo

Morphology Fibroblastlignende

Growth properties Vedhengende

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 stabilt glutamin, uten: Ribonukleosider, m/o: Deoksyribonukleosider, m: 1,0 mM Natriumpyruvat, m: 2,2 g/L NaHCO₃**Supplements** Suppler mediet med 20 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** 1:2 til 1:4**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

OP9-celler | 305174

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

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

Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

OP9-celler | 305174

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.