

## OP9-celler | 305174

## Allmän information

## Description

OP9-cellinjen, en stromal cellinje som härrör från calvariae hos op/op-möss, har en mutation som leder till brist på makrofagkolonistimulerande faktor (M-CSF), som är en kritisk cytokin som är involverad i differentiering, överlevnad och funktion hos olika celltyper, inklusive makrofager och osteoklaster.

OP9-celler har använts i stor utsträckning inom hematopoiesforskning som matarskikt i samodlingssystem för att stödja differentiering och expansion av både hematopoetiska stamceller (HSC) och embryonala stamceller (ESC). Dessa samodlingssystem har underlättat studierna av hematopoetiska differentieringsvägar och gjort det möjligt för MSC att differentiera till vuxna erytroida celler, erythroblaster och röda blodkroppar samt osteocyter, kondrocyter, myocyter, tenocyter och adipocyter. OP9-cellernas stödjande roll i dessa system tillskrivs deras förmåga att skapa en gynnsam mikromiljö som är rik på cytokiner och tillväxtfaktorer som är nödvändiga för stamcellernas proliferation och linjespecifika differentiering.

OP9-cellinjen är dessutom viktig för att studera leukocytreaktionen och utvecklingen av immunceller som naturliga mördarceller (NK-celler), vilket visar att OP9-muslinjen är användbar inom immunologisk forskning. De sekretoriska faktorer som produceras av OP9-celler, inklusive tillväxtfaktorer som bFGF, IGF-1, IL-3, PDGF-BB, TGF- $\beta$ 1 och TGF- $\beta$ 3, spelar en avgörande roll i cellmigrations- och differentieringsprocesser.

OP9-cellerna uppvisar ett fibroblastliknande utseende, som kännetecknas av en spindelformad, platt morfologi. Detta morfologiska drag är typiskt för mesenkymala stromaceller, som är kända för sina stödjande funktioner i benmärgens mikromiljö.

Trots sin enorma potential har OP9-celler begränsningar på grund av att de inte är odödliga, vilket begränsar användningen till kortsiktiga och småskaliga projekt och understryker behovet av noggrann planering och överväganden vid experimentell design.

**Organism** Mus

**Tissue** Benmärg, stroma

**Synonyms** OP-9

## Egenskaper

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

**Age** Embryo

**Morphology** Fibroblastliknande

**Growth properties** Följsam

## Lagstadgade uppgifter

## OP9-celler | 305174

**Citation** OP9 (Cytion katalognummer 305174)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10090

**CellosaurusAccession** CVCL\_4398

## Biomolekylära data

## Hantering

**Culture Medium** Alpha MEM, med: 2,0 mM stabilt glutamin, utan Ribonukleosider, w/o: Deoxyribonukleosider, w: 1,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>

**Supplements** Komplettera mediet med 20% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

**Split ratio** 1:2 till 1:4

**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka

**Freeze medium** Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

## OP9-celler | 305174

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid  $300 \times g$  i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befuktad atmosfär.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

### Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

## OP9-celler | 305174

### Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.