

**Células OP9 | 305174****Información general****Description**

La línea celular OP9, una línea celular estromal derivada de las calvarias de ratones op/op, tiene una mutación que conduce a la falta de factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), que es una citocina crítica implicada en la diferenciación, supervivencia y función de varios tipos celulares, incluidos macrófagos y osteoclastos.

Las células OP9 se han utilizado ampliamente en el campo de la investigación de la hematopoyesis como capas alimentadoras en sistemas de co-cultivo para apoyar la diferenciación y expansión tanto de células madre hematopoyéticas (HSCs) como de células madre embrionarias (ESCs). Estos sistemas de co-cultivo han facilitado el estudio de las vías de diferenciación hematopoyética, permitiendo a las MSC diferenciarse en células eritroides adultas, eritroblastos y glóbulos rojos y osteocitos, condrocitos, miocitos, tenocitos y adipocitos. El papel de apoyo de las células OP9 en estos sistemas se atribuye a su capacidad para producir un microambiente propicio rico en citoquinas y factores de crecimiento esenciales para la proliferación de células madre y la diferenciación de linajes específicos.

Además, la línea celular OP9 es fundamental para estudiar la reacción leucocitaria y el desarrollo de células inmunitarias como las células asesinas naturales (NK), lo que demuestra la utilidad de la línea de ratón OP9 en la investigación inmunológica. Los factores secretados producidos por las células OP9, incluidos factores de crecimiento como bFGF, IGF-1, IL-3, PDGF-BB, TGF- $\beta$ 1 y TGF- $\beta$ 3, desempeñan un papel fundamental en los procesos de migración y diferenciación celular.

Las células OP9 presentan un aspecto similar al fibroblasto, caracterizado por una morfología fusiforme y plana. Este rasgo morfológico es típico de las células estromales mesenquimales, conocidas por sus funciones de apoyo en el microentorno de la médula ósea.

A pesar de su enorme potencial, las células OP9 tienen limitaciones debido a su naturaleza no inmortalizada, que confina su uso a proyectos a corto plazo y a pequeña escala, lo que subraya la necesidad de una cuidadosa planificación y consideración en los diseños experimentales.

**Organism** Ratón**Tissue** Médula ósea, estroma**Synonyms** OP-9**Características****Breed/Subspecies** (C57BL/6 x C3H) F2-op/op**Age** Embrión**Morphology** Tipo fibroblasto

**Células OP9 | 305174**

**Growth properties** Adherente

**Datos reglamentarios**

**Citation** OP9 (número de catálogo 305174 de Cytion)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10090

**CellosaurusAccession** CVCL\_4398

**Datos biomoleculares****Manejo de**

**Culture Medium** MEM alfa, con: 2,0 mM de glutamina estable, sin Ribonucleósidos, w/o: Desoxirribonucleósidos, w: 1,0 mM Piruvato sódico, w: 2,2g/L NaHCO<sub>3</sub>

**Supplements** Complementar el medio con un 20% de FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.

**Split ratio** 1:2 a 1:4

**Fluid renewal** de 2 a 3 veces por semana

**Freeze medium** Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés criointducido.

## Células OP9 | 305174

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a  $37^{\circ}\text{C}$  con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmósfera humidificada.

### Flask Coating

Ninguno

### Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

### Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

## Células OP9 | 305174

### Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

## Control de calidad / Perfil genético / HLA

### Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.