

Células OP9 | 305174**Informações gerais****Description**

A linha de células OP9, uma linha de células estromais derivada das calvárias de ratinhos op/op, tem uma mutação que leva à falta de fator estimulador de colônias de macrófagos (M-CSF), que é uma citocina crítica envolvida na diferenciação, sobrevivência e função de vários tipos de células, incluindo macrófagos e osteoclastos.

As células OP9 têm sido amplamente utilizadas no domínio da investigação da hematopoiese como camadas de alimentação em sistemas de co-cultura para apoiar a diferenciação e a expansão de células estaminais hematopoiéticas (HSC) e de células estaminais embrionárias (ESC). Estes sistemas de co-cultura facilitaram o estudo das vias de diferenciação hematopoiética, permitindo às MSCs diferenciarem-se em células eritróides adultas, eritroblastos e glóbulos vermelhos e osteócitos, condrócitos, miócitos, tenócitos e adipócitos. O papel de apoio das células OP9 nestes sistemas é atribuído à sua capacidade de produzir um microambiente propício, rico em citocinas e factores de crescimento essenciais para a proliferação de células estaminais e a diferenciação específica de linhagens.

Além disso, a linha de células OP9 é fundamental para o estudo da reação dos leucócitos e do desenvolvimento de células imunitárias, como as células assassinas naturais (NK), o que demonstra a utilidade da linha de ratinhos OP9 na investigação imunológica. Os factores secretores produzidos pelas células OP9, incluindo factores de crescimento como o bFGF, IGF-1, IL-3, PDGF-BB, TGF-β1 e TGF-β3, desempenham um papel fundamental nos processos de migração e diferenciação celular.

As células OP9 apresentam uma aparência semelhante à dos fibroblastos, caracterizada por uma morfologia fusiforme e plana. Esta característica morfológica é típica das células estromais mesenquimais, que são conhecidas pelas suas funções de suporte no microambiente da medula óssea.

Apesar do seu vasto potencial, as células OP9 têm limitações devido à sua natureza não imortalizada, o que limita a sua utilização a projectos de curto prazo e de pequena escala, sublinhando a necessidade de um planeamento cuidadoso e de uma ponderação nos desenhos experimentais.

Organism Rato**Tissue** Medula óssea, estroma**Synonyms** OP-9**Caraterísticas****Breed/Subspecies** (C57BL/6 x C3H) F2-op/op**Age** Embrião**Morphology** Tipo fibroblastos

Células OP9 | 305174

Growth properties Aderente

Dados regulamentares

Citation OP9 (número de catálogo Cytion 305174)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_4398

Dados biomoleculares**Manuseamento**

Culture Medium MEM alfa, com: Glutamina estável a 2,0 mM, sem: Ribonucleósidos, s/: Desoxirribonucleósidos, u: 1,0 mM Piruvato de sódio, u: 2,2g/L NaHCO₃

Supplements Completar o meio com 20% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Split ratio 1:2 a 1:4

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células OP9 | 305174

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células OP9 | 305174

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.