

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

A linhagem celular OP9, uma linhagem de células estromais derivada da calvária de camundongos op/op, apresenta uma mutação que leva à ausência do fator estimulador de colônias de macrófagos (M-CSF), que é uma citocina essencial envolvida na diferenciação, sobrevivência e função de vários tipos de células, incluindo macrófagos e osteoclastos.

As células OP9 têm sido amplamente utilizadas no campo da pesquisa em hematopoiese como camadas alimentadoras em sistemas de cocultura para apoiar a diferenciação e a expansão tanto de células-tronco hematopoiéticas (HSCs) quanto de células-tronco embrionárias (ESCs). Esses sistemas de cocultura facilitaram o estudo das vias de diferenciação hematopoiética, permitindo que as MSCs se diferenciem em células eritroides adultas, eritroblastos e glóbulos vermelhos, bem como em osteócitos, condrócitos, miócitos, tenócitos e adipócitos. O papel de suporte das células OP9 nesses sistemas é atribuído à sua capacidade de produzir um microambiente propício, rico em citocinas e fatores de crescimento essenciais para a proliferação das células-tronco e a diferenciação específica de cada linhagem.

Além disso, a linhagem celular OP9 é fundamental para o estudo da reação leucocitária e do desenvolvimento de células imunológicas, como as células natural killer (NK), demonstrando a utilidade da linhagem de camundongos OP9 na pesquisa imunológica. Os fatores secretórios produzidos pelas células OP9, incluindo fatores de crescimento como bFGF, IGF-1, IL-3, PDGF-BB, TGF- β 1 e TGF- β 3, desempenham um papel crítico nos processos de migração e diferenciação celular.

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

Apesar de seu vasto potencial, as células OP9 apresentam limitações devido à sua natureza não imortalizada, o que restringe seu uso a projetos de curto prazo e em pequena escala, ressaltando a necessidade de planejamento cuidadoso e consideração nos desenhos experimentais.

Organism Mouse**Tissue** Medula óssea, estroma**Synonyms** OP-9**Características****Breed/Subspecies** (C57BL/6 x C3H) F2-op/op**Age** Embrião**Morphology** Semelhante a fibroblastos

Células OP9 | 305174

Growth properties Aderente

Dados regulatórios

Citation OP9 (número de catálogo da Cytion 305174)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_4398

Dados biomoleculares**Manuseio**

Culture Medium Alpha MEM, contendo: 2,0 mM de glutamina estável, sem: ribonucleosídeos, sem: desoxirribonucleosídeos, contendo: 1,0 mM de piruvato de sódio, contendo: 2,2 g/L de NaHCO₃

Supplements Adicione 20% de FBS ao meio

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

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

Células OP9 | 305174

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células OP9 | 305174

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.