

## Cellules OP9 | 305174

## Renseignements généraux

## Description

La lignée cellulaire OP9, une lignée de cellules stromales dérivée de la calotte crânienne de souris op/op, présente une mutation entraînant une absence de facteur de stimulation des colonies de macrophages (M-CSF), une cytokine essentielle impliquée dans la différenciation, la survie et le fonctionnement de divers types cellulaires, notamment les macrophages et les ostéoclastes.

Les cellules OP9 ont été largement utilisées dans le domaine de la recherche sur l'hématopoïèse comme couches nourricières dans des systèmes de co-culture afin de favoriser la différenciation et la prolifération tant des cellules souches hématopoïétiques (CSH) que des cellules souches embryonnaires (CSE). Ces systèmes de co-culture ont facilité l'étude des voies de différenciation hématopoïétique, permettant aux CSM de se différencier en cellules érythroïdes adultes, en érythroblastes et en globules rouges, ainsi qu'en ostéocytes, chondrocytes, myocytes, ténocytes et adipocytes. Le rôle de soutien des cellules OP9 dans ces systèmes est attribué à leur capacité à produire un microenvironnement propice, riche en cytokines et en facteurs de croissance essentiels à la prolifération des cellules souches et à la différenciation spécifique à chaque lignée.

De plus, la lignée cellulaire OP9 joue un rôle déterminant dans l'étude de la réaction leucocytaire et du développement de cellules immunitaires telles que les cellules tueuses naturelles (NK), ce qui démontre l'utilité de la lignée murine OP9 dans la recherche immunologique. Les facteurs sécrétoires produits par les cellules OP9, notamment des facteurs de croissance comme le bFGF, l'IGF-1, l'IL-3, le PDGF-BB, le TGF- $\beta$ 1 et le TGF- $\beta$ 3, jouent un rôle essentiel dans les processus de migration et de différenciation cellulaires.

Les cellules OP9 présentent un aspect de type fibroblaste, caractérisé par une morphologie plate et fusiforme. Cette caractéristique morphologique est typique des cellules stromales mésenchymateuses, connues pour leurs fonctions de soutien dans le microenvironnement de la moelle osseuse.

Malgré leur vaste potentiel, les cellules OP9 présentent des limites en raison de leur nature non immortalisée, ce qui restreint leur utilisation à des projets à court terme et à petite échelle, soulignant la nécessité d'une planification et d'une réflexion minutieuses dans la conception des expériences.

**Organism** Souris

**Tissue** Moelle osseuse, stroma

**Synonyms** OP-9

## Caractéristiques

**Breed/Subspecies** (C57BL/6  $\times$  C3H) F2-op/op

**Age** Embryon

**Morphology** De type fibroblaste

## Cellules OP9 | 305174

**Growth properties**      Adepte

## Données réglementaires

**Citation**      OP9 (numéro de catalogue Cytion 305174)

**Biosafety level**      1

**NCBI\_TaxID**      10090

**CellosaurusAccession**      CVCL\_4398

## Données biomoléculaires

## Manipulation

**Culture Medium**      Alpha MEM, contenant : 2,0 mM de glutamine stable, sans : ribonucléosides, sans : désoxyribonucléosides, contenant : 1,0 mM de pyruvate de sodium, contenant : 2,2 g/L de NaHCO<sub>3</sub>

**Supplements**      Ajouter 20 % de FBS au milieu de culture

**Dissociation Reagent**      Accutase

**Subculturing**      Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

**Fluid renewal**      2 à 3 fois par semaine

**Freeze medium**      Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

## Cellules OP9 | 305174

### Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO<sub>2</sub>, atmosphère humidifiée.

### Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

### Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

## Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

### **Sterility**

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.