Product sheet

OK-celler | 606465

Generel information

Description	OK-cellelinjen er en permanent epitellignende cellekultur, der stammer fra nyrevæv fra en voksen hun af en amerikansk opossum (Didelphis virginiana). Denne cellelinje er etableret in vitro og er bemærkelsesværdig for sit ikke-diploide kromosomale modalnummer på 23 og sin tilpasningsevne til vævskulturforhold. Kulturen stammer oprindeligt fra blandede celletyper, men udviklede sig til overvejende epitelceller efter otte passager. OK-cellelinjen er blevet grundigt karakteriseret med hensyn til morfologi, kromosomkonstitution og vækstdynamik, hvilket gør den til en robust model for cytogenetiske og kromosomisoleringsundersøgelser. En af de vigtigste egenskaber ved OK-cellelinjen er dens anvendelighed i kromosomundersøgelser, især til isolering af pattedyrs X-kromosom. Opossums X-kromosom er betydeligt mindre (ca. 30 % mindre end de mindste autosomer) og indeholder ikke store blokke af konstitutivt heterokromatin, hvilket letter adskillelsen fra autosomer ved hjælp af teknikker som flowmikrofluorometri og gradientcentrifugering. OK-cellernes stabile karyotype med tilstedeværelsen af et karakteristisk metacentrisk markørkromosom forbedrer deres anvendelse i genomiske og kromosomale studier. Det faderlige X-kromosoms foretrukne inaktivering i dette pungdyr giver en komparativ model til undersøgelse af mekanismer, der ligger til grund for X-kromosomets inaktivering i pattedyr. OK-cellerne har også vist modstandsdygtighed og tilpasningsevne under forskellige dyrkningsforhold, herunder serumvariationer og forskellige mitosehæmmende midler som Velban (vinblastinsulfat), som er særligt effektivt til at opnå høje mitoseindeks til kromosomisolering. Cellelinjens evne til at synkronisere og producere høje udbytter af metafaseceller understreger yderligere dens egnethed til detaljerede kromosomanalyser, herunder kvantificering af DNA-indhold og billeddannelse i høj opløsning af kromosomspredning.
Organism	Opossum
Tissue	Nyre, cortex, proximal tubulus
Synonyms	Opossum nyre, OK-WT

Karakteristika

Age	Voksen
Gender	Kvinde
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Monolag, klæbende

Regulatoriske data

Product sheet

OK-celler | 606465

Citation	OK (Cytion katalognummer 606465)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9267
CellosaurusAccession	CVCL_0472

Biomolekylære data

Receptors expressed	Alfa2-adrenerge, serotonin, parathyreoideahormon, atrial natriuretisk faktor

Håndtering

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS og 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
Split ratio	Det anbefales at bruge et blandingsforhold på 1:4 til 1:8
Fluid renewal	2 til 3 gange om ugen
Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, befugtet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.
Shipping Conditions	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions	For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility	Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.