

OK-celler | 606465

General 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.

Et af de vigtigste træk 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 kromosomspreddning.

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

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, resuspendere 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 kryopræservationsmedium 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.

OK-celler | 606465

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

OK-celler | 606465

**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 / Genetisk profil / HLA

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.