Product sheet

OK-Zellen | 606465

Allgemeine Informationen

Description	Die OK-Zelllinie ist eine permanente epithelähnliche Zellkultur, die aus dem Nierengewebe eines erwachsenen weiblichen amerikanischen Opossums (Didelphis virginiana) gewonnen wird. Diese in vitro hergestellte Zelllinie zeichnet sich durch ihre nicht-diploide Chromosomenzahl von 23 und ihre Anpassungsfähigkeit an Gewebekulturbedingungen aus. Ursprünglich aus gemischten Zelltypen hervorgegangen, entwickelte sich die Kultur nach acht Passagen zu überwiegend epithelialen Zellen. Die OK-Zelllinie wurde hinsichtlich ihrer Morphologie, chromosomalen Konstitution und Wachstumsdynamik umfassend charakterisiert, was sie zu einem robusten Modell für zytogenetische und chromosomale Isolierungsstudien macht. Eine der wichtigsten Eigenschaften der OK-Zelllinie ist ihre Nützlichkeit für Chromosomenstudien, insbesondere für die Isolierung des X-Chromosoms von Säugetieren. Das X-Chromosom des Opossums ist deutlich kleiner (etwa 30 % kleiner als die kleinsten Autosomen) und enthält keine großen Blöcke konstitutiven Heterochromatins, was die Trennung von Autosomen durch Techniken wie Durchflussmikrofluorometrie und Gradientenzentrifugation erleichtert. Der stabile Karyotyp der OK-Zellen mit dem Vorhandensein eines ausgeprägten metazentrischen Markerchromosoms begünstigt ihre Verwendung in genomischen und chromosomalen Studien. Die bevorzugte Inaktivierung des väterlichen X-Chromosoms bei diesem Beuteltier bietet ein Vergleichsmodell für die Untersuchung der Mechanismen, die der Inaktivierung des X-Chromosoms bei Säugetieren zugrunde liegen. Die OK-Zellen haben sich auch als widerstandsfähig und anpassungsfähig gegenüber verschiedenen Kulturbedingungen erwiesen, einschließlich Serumvariationen und verschiedenen mitotischen Hemmstoffen wie Velban (Vinblastinsulfat), das besonders wirksam ist, um hohe mitotische Indizes für die Chromosomenisolierung zu erreichen. Die Fähigkeit der Zelllinie, sich zu synchronisieren und eine hohe Ausbeute an Metaphase-Zellen zu produzieren, unterstreicht ihre Eignung für detaillierte Chromosomenanalysen, einschließlich der Quantifizierung des DNA-Gehalts und der hochauflösenden Darstellung von Chromosomenverteilungen.
Organism	Opossum
Tissue	Niere, Rinde, Proximaler Tubulus
Synonyms	Opossum-Niere, OK-WT

Merkmale

Age	Erwachsener
Gender	Weiblich
Morphology	Epithelähnlich
Growth properties	Monolayer, haftend

OK-Zellen | 606465

Regulatorische Daten

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

Biomolekulare Daten

Receptors expressed	Alpha2-Adrenorezeptoren, Serotonin, Nebenschilddrüsenhormon, atrialer natriuretischer Faktor

Handhabung

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion-Artikelnummer 820100a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS und 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
Split ratio	Empfohlen wird ein Teilungsverhältnis von 1:4 bis 1:8
Fluid renewal	2 bis 3 Mal pro Woche
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

OK-Zellen | 606465

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.
Flask Coating	Keine
Freezing Procedure	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility	Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.