Product sheet

Cellules OK | 606465

Informations générales

Description	La lignée cellulaire OK est une culture cellulaire permanente de type épithélial dérivée du tissu rénal d'une femelle adulte d'opossum américain (Didelphis virginiana). Établie in vitro, cette lignée cellulaire se distingue par son nombre modal chromosomique non diploïde de 23 et son adaptabilité aux conditions de culture tissulaire. Initialement dérivée de types cellulaires mixtes, la culture a évolué vers des cellules épithéliales prédominantes après huit passages. La lignée cellulaire OK a été largement caractérisée en termes de morphologie, de constitution chromosomique et de dynamique de croissance, ce qui en fait un modèle robuste pour les études cytogénétiques et d'isolation chromosomique. L'une des principales caractéristiques de la lignée cellulaire OK est son utilité pour les études chromosomiques, en particulier pour l'isolement du chromosome X des mammifères. Le chromosome X de l'opossum est nettement plus petit (environ 30 % de moins que les plus petits autosomes) et ne contient pas de grands blocs d'hétérochromatine constitutive, ce qui facilite la séparation des autosomes par des techniques telles que la microfluorométrie de flux et la centrifugation en gradient. Le caryotype stable des cellules OK, avec la présence d'un chromosome marqueur métacentrique distinctif, renforce leur application dans les études génomiques et chromosomiques. L'inactivation préférentielle du chromosome X paternel chez ce marsupial fournit un modèle comparatif pour l'étude des mécanismes sous-jacents à l'inactivation du chromosome X chez les mammifères. Les cellules OK ont également fait preuve de résilience et d'adaptabilité dans diverses conditions de culture, y compris les variations de sérum et différents agents d'arrêt mitotique comme le Velban (sulfate de vinblastine), qui est particulièrement efficace pour obtenir des indices mitotiques élevés pour l'isolement des chromosomes. La capacité de la lignée cellulaire à se synchroniser et à produire des rendements élevés de cellules en métaphase souligne en outre sa pertinence pour des analyses chromosomiques détaillées, y compris la quantification du contenu en ADN et l'imagerie à haute résolution des étalements chromosomiques.
Organism	Opossum
Tissue	Rein, cortex, tubule proximal
Synonyms	Rein d'opossum, OK-WT

Caractéristiques

Age	Adulte
Gender	Femme
Morphology	De type épithélial
Growth properties	Monocouche, adhérente

Données réglementaires

Product sheet

Cellules OK | 606465

Citation	OK (numéro de catalogue Cytion 606465)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9267
CellosaurusAccession	CVCL_0472

Données biomoléculaires

Receptors expressed	Alpha2-adrénergique, sérotonine, hormone parathyroïdienne, facteur natriurétique auriculaire

Manipulation

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w : 2 mM L-Glutamine, w : 2.2 g/L NaHCO3, w : EBSS (numéro d'article Cytion 820100a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10 % de FBS et 1 % de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Split ratio	Un rapport de division de 1:4 à 1:8 est recommandé
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Cellules OK | 606465

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.

4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.

8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosphère humidifiée.
Flask Coating	Aucun
Freezing Procedure	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle 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 basées sur la luminescence. Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.