Product sheet

Celle OK | 606465

Informazioni generali

Description	La linea cellulare OK è una coltura cellulare epiteliale permanente derivata dal tessuto renale di una femmina adulta di opossum americano (Didelphis virginiana). Stabilita in vitro, questa linea cellulare si distingue per il numero cromosomico modale non diploide di 23 e per la sua adattabilità alle condizioni di coltura dei tessuti. Inizialmente derivata da tipi di cellule miste, la coltura si è evoluta in cellule prevalentemente epiteliali dopo otto passaggi. La linea cellulare OK è stata ampiamente caratterizzata in termini di morfologia, costituzione cromosomica e dinamiche di crescita, rendendola un modello robusto per studi citogenetici e di isolamento cromosomico. Una delle caratteristiche principali della linea cellulare OK è la sua utilità negli studi cromosomici, in particolare per l'isolamento del cromosoma X dei mammiferi. Il cromosoma X dell'opossum è significativamente più piccolo (circa il 30% in meno rispetto agli autosomi più piccoli) e non contiene grandi blocchi di eterocromatina costitutiva, facilitando la separazione dagli autosomi attraverso tecniche come la microfluorometria a flusso e la centrifugazione a gradiente. Il cariotipo stabile delle cellule OK, con la presenza di un cromosoma marcatore metacentrico distintivo, ne migliora l'applicazione negli studi genomici e cromosomici. L'inattivazione preferenziale del cromosoma X paterno in questo marsupiale fornisce un modello comparativo per studiare i meccanismi alla base dell'inattivazione del cromosoma X nei mammiferi. Le cellule OK hanno inoltre dimostrato resilienza e adattabilità a diverse condizioni di coltura, tra cui variazioni di siero e diversi agenti di arresto mitotico come il Velban (vinblastina solfato), particolarmente efficace per ottenere elevati indici mitotici per l'isolamento dei cromosomi. La capacità della linea cellulare di sincronizzarsi e produrre elevate rese di cellule in metafase sottolinea ulteriormente la sua idoneità per analisi cromosomiche dettagliate, tra cui la quantificazione del contenuto di DNA e l'imaging ad alta risoluzione della diffusione cromosomica.
Organism	Opossum
Tissue	Rene, corteccia, tubulo prossimale
Synonyms	Rene di opossum, OK-WT

Caratteristiche

Age	Adulti
Gender	Donna
Morphology	Simile all'epitelio
Growth properties	Monostrato, aderente

Dati normativi

Celle OK | 606465

Citation	OK (numero di catalogo Cytion 606465)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9267
CellosaurusAccession	CVCL_0472

Dati biomolecolari

Receptors expressed	Alfa2-adrenergico, serotonina, ormone paratiroideo, fattore natriuretico atriale

Manipolazione

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (articolo Cytion numero 820100a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
Split ratio	Si consiglia un rapporto di ripartizione da 1:4 a 1:8
Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera umidificata.
Flask Coating	Nessuno
Freezing Procedure	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.
Shipping Conditions	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions	Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility	La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza. Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.