Product sheet

OK Cellen | 606465

Algemene informatie

Description	De OK-cellijn is een permanente epitheliale celcultuur afkomstig van nierweefsel van een volwassen vrouwelijke Amerikaanse opossum (Didelphis virginiana). Deze cellijn, die in vitro is gemaakt, valt op door zijn niet-diploïde chromosomale modale aantal van 23 en zijn aanpassingsvermogen aan weefselkweekomstandigheden. De kweek was aanvankelijk afgeleid van gemengde celtypen, maar evolueerde na acht passages naar voornamelijk epitheelcellen. De OK cellijn is uitgebreid gekarakteriseerd in termen van morfologie, chromosomale constitutie en groeidynamiek, waardoor het een robuust model is voor cytogenetische en chromosoomisolatiestudies. Een van de belangrijkste eigenschappen van de OK cellijn is het nut ervan voor chromosoomstudies, met name voor het isoleren van het X-chromosoom van zoogdieren. Het X-chromosoom van de opossum is aanzienlijk kleiner (ongeveer 30% kleiner dan de kleinste autosomen) en bevat geen grote blokken constitutieve heterochromatine, waardoor scheiding van autosomen met technieken als flow microfluorometrie en gradiëntcentrifugatie gemakkelijker wordt. Het stabiele karyotype van de OK-cellen, met de aanwezigheid van een kenmerkend metacentrisch markerchromosoom, verbetert hun toepassing in genomische en chromosomale studies. De preferentiële inactivatie van het vaderlijke X-chromosoom in dit buideldier biedt een vergelijkend model voor het bestuderen van mechanismen die ten grondslag liggen aan X-chromosoom inactivatie bij zoogdieren. OK-cellen hebben ook veerkracht en aanpassingsvermogen laten zien in verschillende kweekomstandigheden, waaronder serumvariaties en verschillende mitotisch remmende middelen zoals Velban (vinblastinesulfaat), dat bijzonder effectief is voor het bereiken van hoge mitotische indices voor chromosoomisolatie. Het vermogen van de cellijn om te synchroniseren en een hoge opbrengst aan metafasecellen te produceren, onderstreept de geschiktheid voor gedetailleerde chromosomale analyses, waaronder de kwantificering van het DNA-gehalte en beeldvorming met hoge resolutie van chromosomale spreidingen.
Organism	Opossum
Tissue	Nier, cortex, proximale tubulus
Synonyms	Opossum nier, OK-WT

Kenmerken

Age	Volwassen
Gender	Vrouw
Morphology	Epitheelachtig
Growth properties	Monolaag, adherent

Regelgevende gegevens

OK Cellen | 606465

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

Biomoleculaire gegevens

Receptors expressed	Alfa2-adrenerge, serotonine, bijschildklierhormoon, atriale natriuretische factor

Omgaan met

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS en 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
Split ratio	Een splitsingsverhouding van 1:4 tot 1:8 wordt aanbevolen
Fluid renewal	2 tot 3 keer per week
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells	1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden. 2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is. 3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft. 4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend. 5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig. 6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg. 7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen. 8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, bevochtigde atmosfeer.
Flask Coating	Geen
Freezing Procedure	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.
Shipping Conditions	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions	Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility	Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden. Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.