Product sheet

OK Celler | 606465

Generell informasjon

Description	OK-cellelinjen er en permanent epitellignende cellekultur som stammer fra nyrevev fra en voksen hunn av amerikansk opossum (Didelphis virginiana). Denne cellelinjen er etablert in vitro og er kjent for sitt ikke-diploide kromosomale modaltall på 23 og sin tilpasningsevne til vevskulturbetingelser. Opprinnelig stammer cellelinjen fra blandede celletyper, men etter åtte passeringer utviklet den seg til å bestå av epitelceller. OK-cellelinjen har blitt grundig karakterisert med hensyn til morfologi, kromosomkonstitusjon og vekstdynamikk, noe som gjør den til en robust modell for cytogenetiske og kromosomisolasjonsstudier. En av de viktigste egenskapene til OK-cellelinjen er dens anvendelighet i kromosomstudier, spesielt når det gjelder isolering av X-kromosomet hos pattedyr. Opossums X-kromosom er betydelig mindre (ca. 30 % mindre enn de minste autosomene) og inneholder ikke store blokker med konstitutivt heterokromatin, noe som gjør det lettere å skille det fra autosomene ved hjelp av teknikker som flow-mikrofluorometri og gradientsentrifugering. OK-cellenes stabile karyotype, med tilstedeværelsen av et karakteristisk metacentrisk markørkromosom, gjør det lettere å bruke dem i genomiske og kromosomale studier. Faderens X-kromosom inaktiveres fortrinnsvis hos dette pungdyret, noe som gir en komparativ modell for å studere mekanismene som ligger til grunn for inaktivering av X-kromosomet hos pattedyr. OK-cellene har også vist seg robuste og tilpasningsdyktige under ulike dyrkingsforhold, inkludert serumvariasjoner og ulike mitosehemmende midler som Velban (vinblastinsulfat), som er spesielt effektivt for å oppnå høye mitoseindekser for kromosomisolering. Cellelinjens evne til å synkronisere og produsere høye utbytter av metafaseceller understreker ytterligere dens egnethet for detaljerte kromosomanalyser, inkludert kvantifisering av DNA-innhold og høyoppløselig avbildning av kromosomspredning.
Organism	Opossum
Tissue	Nyre, cortex, proksimale tubuli
Synonyms	Opossum Kidney, OK-WT

Kjennetegn

Age	Voksen
Gender	Kvinne
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Monolag, vedheftende

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, biskjoldbruskkjertelhormon, atriell natriuretisk faktor

Håndtering

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO3, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	Et delingsforhold på 1:4 til 1:8 anbefales
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Thawing and Culturing Cells	1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport. 2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig. 3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen. 4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den. 5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig. 6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig. 7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst. 8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, befuktet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Shipping Conditions	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions	For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility	Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma. For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.