

OK Cells | 606465

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire OK est une culture cellulaire permanente de type épithélial dérivée du tissu rénal d'une oposette américaine (*Didelphis virginiana*) adulte de sexe féminin. Établie in vitro, cette lignée cellulaire se distingue par son nombre modal chromosomique non diploïde de 23 et par sa capacité d'adaptation aux conditions de culture tissulaire. Initialement dérivée de types cellulaires mixtes, la culture a évolué vers une population à prédominance épithéliale après huit passages. La lignée cellulaire OK a fait l'objet d'une caractérisation approfondie sur le plan de la morphologie, de la constitution chromosomique et de la dynamique de croissance, ce qui en fait un modèle robuste pour les études cytogénétiques et d'isolement chromosomique.

L'une des principales caractéristiques de la lignée cellulaire OK réside dans 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 % plus petit que les plus petits autosomes) et ne contient pas de grands blocs d'hétérochromatine constitutive, ce qui facilite sa séparation des autosomes grâce à des techniques telles que la microfluorométrie en flux et la centrifugation en gradient. Le caryotype stable des cellules OK, caractérisé par 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 offre un modèle comparatif pour l'étude des mécanismes sous-jacents à l'inactivation du chromosome X chez les mammifères.

Les cellules OK ont également démontré leur résilience et leur adaptabilité dans diverses conditions de culture, y compris des variations de la concentration sérique et l'utilisation de différents agents d'arrêt mitotique comme le Velban (sulfate de vinblastine), qui est particulièrement efficace pour obtenir des indices mitotiques élevés en vue de l'isolement chromosomique. La capacité de cette lignée cellulaire à se synchroniser et à produire des rendements élevés de cellules en métaphase souligne encore davantage son adéquation pour des analyses chromosomiques détaillées, notamment 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

OK Cells | 606465

Données réglementaires

Citation OK (numéro de catalogue Cytion 606465)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9267

CellosaurusAccession CVCL_0472

Données biomoléculaires

Receptors expressed Récepteurs alpha-2-adrénergiques, sérotonine, hormone parathyroïdienne, facteur natriurétique auriculaire

Manipulation

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), contenant : 2 mM de L-glutamine, 2,2 g/L de NaHCO₃, et EBSS (référence Cytion 820100a)

Supplements Ajouter au milieu 10 % de FBS et 1 % de NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Fluid renewal 2 à 3 fois par semaine

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

OK Cells | 606465

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5 % de CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C . L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la 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 par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.