Product sheet

Добри клетки | 606465

Обща информация

Description	Клетъчната линия OK е постоянна клетъчна култура, подобна на епител, получена от бъбречна тъкан на възрастен женски американски опосум (Didelphis virginiana). Създадена in vitro, тази клетъчна линия се отличава с недиплоидния си хромозомен модален брой от 23 и с адаптивността си към условията на тъканните култури. Първоначално получена от смесени клетъчни типове, културата еволюира до предимно епителни клетки след осем пасажа. Клетъчната линия OK е подробно характеризирана по отношение на морфологията, хромозомната структура и динамиката на растежа, което я прави надежден модел за цитогенетични изследвания и изследвания за изолиране на хромозоми. Една от ключовите характеристики на клетъчната линия OK е нейната полезност за хромозомни изследвания, особено за изолиране на X-хромозомата на бозайниците. X хромозомата на опосума е значително по-малка (приблизително 30 % по-малка от най-малките автозоми) и не съдържа големи блокове от конститутивен хетерохроматин, което улеснява отделянето ѝ от автозомите чрез техники като поточна микрофлуорометрия и градиентно центрофугиране. Стабилният кариотип на OK клетките, с наличието на отличителна метацентрична маркерна хромозома, подобрява приложението им в геномни и хромозомни изследвания. Преференциалната инактивация на бащината X-хромозома при този торбест вид осигурява сравнителен модел за изучаване на механизмите, които са в основата на инактивацията на X-хромозомата при бозайниците. Клетките на OK също така демонстрират устойчивост и адаптивност при различни условия на култивиране, включително вариации на серума и различни агенти за задържане на митозата като Velban (винбластин сулфат), който е особено ефективен за постигане на високи митотични индекси за изолиране на хромозоми. Способността на клетъчната линия да се синхронизира и да произвежда високи добиви от метафазни клетки допълнително подчертава нейната пригодност за подробни хромозомни анализи, включително количествено определяне на съдържанието на ДНК и визуализиране на хромозомни разсейки с висока резолюция.
Organism	Опосум
Tissue	Бъбрек, кора, проксимален тубул
Synonyms	Бъбрек на опосум, OK-WT

Характеристики

Age	Възрастни
Gender	Жена
Morphology	Подобни на епител
Growth properties	Монослой, прилепнал

Добри клетки | 606465

Регулаторни данни

Citation	OK (каталожен номер 606465 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9267
CellosaurusAccession	CVCL_0472

Биомолекулярни данни

Receptors expressed	Алфа2-адренергичен, серотонин, паратироиден хормон, предсърден натриуретичен фактор

Работа с

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Split ratio	Препоръчва се съотношение на разтваряне от 1:4 до 1:8
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Добри клетки | 606465

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Добри клетки | 606465

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.