Product sheet

Buňky OK | 606465

Obecné informace

Description	Buněčná linie OK je trvalá epiteliální buněčná kultura odvozená z ledvinové tkáně dospělé samice vačice americké (Didelphis virginiana). Tato buněčná linie byla vytvořena in vitro a vyznačuje se nediploidním modálním počtem chromozomů 23 a adaptabilitou na podmínky tkáňové kultury. Původně vznikla ze smíšených buněčných typů, ale po osmi pasážích se z ní vyvinuly převážně epiteliální buňky. Buněčná linie OK byla podrobně charakterizována z hlediska morfologie, chromozomální konstituce a dynamiky růstu, což z ní činí robustní model pro cytogenetické studie a studie izolace chromozomů. Jednou z klíčových vlastností buněčné linie OK je její využitelnost při studiu chromozomů, zejména pro izolaci savčího chromozomu X. Chromozom X oposumů je výrazně menší (přibližně o 30 % menší než nejmenší autozomy) a neobsahuje velké bloky konstitutivního heterochromatinu, což usnadňuje oddělení od autozomů pomocí technik, jako je průtoková mikrofluorometrie a gradientová centrifugace. Stabilní karyotyp OK buněk s přítomností charakteristického metacentrického markerového chromozomu zvyšuje jejich využití v genomických a chromozomálních studiích. Preferenční inaktivace otcovského chromozomu X u tohoto vačnatce poskytuje srovnávací model pro studium mechanismů, které jsou základem inaktivace chromozomu X u savců. OK buňky také prokázaly odolnost a přizpůsobivost v různých kultivačních podmínkách, včetně sérových variací a různých mitotických restrikčních látek, jako je Velban (vinblastin sulfát), který je obzvláště účinný pro dosažení vysokých mitotických indexů pro izolaci chromozomů. Schopnost buněčné linie synchronizovat a produkovat vysoké výtěžky metafázních buněk dále podtrhuje její vhodnost pro podrobné chromozomální analýzy, včetně kvantifikace obsahu DNA a zobrazování chromozomálních rozsevů s vysokým rozlišením.
Organism	Opossum
Tissue	Ledvina, kůra, proximální tubulus
Synonyms	Ledvina oposuma, OK-WT

Charakteristika

Age	Dospělí
Gender	Ženy
Morphology	Epitelu podobné
Growth properties	Monovrstva, adherentní

Regulační údaje

Citation	OK (katalogové číslo Cytion 606465)

Buňky OK | 606465

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9267
CellosaurusAccession	CVCL_0472

Biomolekulární data

Receptors expressed	Alfa2-adrenergní, serotonin, parathormon, atriální natriuretický faktor

Zpracování

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO3, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr rozdělení 1:4 až 1:8
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky OK | 606465

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.