Product sheet

Εντάξει κύτταρα | 606465

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά OK είναι μια μόνιμη καλλιέργεια κυττάρων που μοιάζουν με επιθήλια και προέρχονται από νεφρικό ιστό ενήλικου θηλυκού αμερικανικού οπόσουμ (Didelphis virginiana). Η εν λόγω κυτταρική σειρά, η οποία δημιουργήθηκε in vitro, είναι αξιοσημείωτη για τον μη διπλοειδή χρωμοσωμικό αριθμό 23 και την προσαρμοστικότητά της σε συνθήκες καλλιέργειας ιστών. Αρχικά προερχόμενη από μικτούς κυτταρικούς τύπους, η καλλιέργεια εξελίχθηκε σε κυρίως επιθηλιακά κύτταρα μετά από οκτώ περάσματα. Η κυτταρική σειρά OK έχει χαρακτηριστεί εκτενώς από άποψη μορφολογίας, χρωμοσωμικής σύστασης και δυναμικής ανάπτυξης, καθιστώντας την ένα ισχυρό μοντέλο για μελέτες κυτταρογενετικής και απομόνωσης χρωμοσωμάτων. Ένα από τα βασικά χαρακτηριστικά της κυτταρικής σειράς OK είναι η χρησιμότητά της σε μελέτες χρωμοσωμάτων, ιδίως για την απομόνωση του χρωμοσώματος X των θηλαστικών. Το χρωμόσωμα X του οπόσουμ είναι σημαντικά μικρότερο (περίπου 30% μικρότερο από τα μικρότερα αυτοσώματα) και δεν περιέχει μεγάλα μπλοκ συστατικής ετεροχρωματίνης, διευκολύνοντας τον διαχωρισμό από τα αυτοσώματα μέσω τεχνικών όπως η μικροφθορομετρία ροής και η φυγοκέντρηση με κλίση. Ο σταθερός καρυότυπος των κυττάρων OK, με την παρουσία ενός χαρακτηριστικού μετακεντρικού χρωμοσώματος-δείκτη, ενισχύει την εφαρμογή τους σε γονιδιωματικές και χρωμοσωμικές μελέτες. Η προτιμησιακή αδρανοποίηση του πατρικού χρωμοσώματος X σε αυτό το μαρσιποφόρο παρέχει ένα συγκριτικό μοντέλο για τη μελέτη των μηχανισμών που διέπουν την αδρανοποίηση του χρωμοσώματος X στα θηλαστικά. Τα κύτταρα OK έχουν επίσης επιδείξει ανθεκτικότητα και προσαρμοστικότητα σε διάφορες συνθήκες καλλιέργειας, συμπεριλαμβανομένων παραλλαγών του ορού και διαφορετικών παραγόντων που αναστέλλουν τη μίτωση, όπως το Velban (θειική βινβλαστίνη), το οποίο είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό για την επίτευξη υψηλών μιτωτικών δεικτών για την απομόνωση χρωμοσωμάτων. Η ικανότητα της κυτταρικής σειράς να συγχρονίζεται και να παράγει υψηλές αποδόσεις μεταφασικών κυττάρων υπογραμμίζει περαιτέρω την καταλληλότητά της για λεπτομερείς χρωμοσωμικές αναλύσεις, συμπεριλαμβανομένης της ποσοτικοποίησης της περιεκτικότητας σε DNA και της απεικόνισης υψηλής ανάλυσης των χρωμοσωμικών διασπορών.
Organism	Οπόσουμ
Tissue	Νεφρός, φλοιός, εγγύς σωληνάριο
Synonyms	Νεφρό Οπόσουμ, OK-WT

Χαρακτηριστικά

Age	Ενηλίκων
Gender	Γυναίκα
Morphology	Επιθηλιοειδής
Growth properties	Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Εντάξει κύτταρα | 606465

Ρυθμιστικά δεδομένα

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

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed	Άλφα2-αδρενεργικό, σεροτονίνη, παραθυρεοειδής ορμόνη, κολπικός νατριουρητικός παράγοντας

Χειρισμός

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Split ratio	Συνιστάται αναλογία διαχωρισμού από 1:4 έως 1:8
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Εντάξει κύτταρα | 606465

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Εντάξει κύτταρα | 606465

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.