

OK rakud | 606465

Üldine teave

Description

OK rakuliin on täiskasvanud emase Ameerika opossumi (*Didelphis virginiana*) neerukoes saadud püsiv epiteelilaadne rakukultuur. See in vitro loodud rakuliin on märkimisväärne oma mittediploidse kromosoomi modaalarvu 23 ja koekultuuritingimustega kohanemise võime poolest. Esialgu segarakkudest saadud kultuur arenes kaheksa läbimise järel valdavalt epiteelirakkudeks. OK rakuliini on ulatuslikult iseloomustatud morfoloogia, kromosoomide koostise ja kasvudünaamika osas, mis teeb sellest tugeva mudeli tsütogeneetiliste ja kromosoomide isoleerimise uuringute jaoks.

Üks OK rakuliini peamisi omadusi on selle kasulikkus kromosoomiuuringutes, eriti imetajate X-kromosoomi isoleerimiseks. Opossumi X-kromosoom on märkimisväärselt väiksem (umbes 30% väiksem kui väikseimad autosoomid) ja ei sisalda suuri konstitutiivse heterokromatiini plokkide, mis hõlbustab eraldamist autosoomidest selliste meetodite abil nagu voolu mikrofluoromeetria ja gradienttsentrifuugimine. OK-rakkude stabiilne karüotüüp koos iseloomuliku metatsentrilise markerkromosoomi olemasoluga parandab nende kasutamist genoomi- ja kromosoomiuuringutes. Isapoolse X-kromosoomi eelistatav inaktiveerumine selles marssupiaalis annab võrdleva mudeli X-kromosoomi inaktiveerumise aluseks olevate mehhanismide uurimiseks imetajatel.

OK rakud on näidanud ka vastupidavust ja kohanemisvõimet erinevates kultuuritingimustes, sealhulgas seerumivariatsioonides ja erinevates mitootilist pidurdavates ainetes, nagu Velban (vinblastiinsulfaat), mis on eriti tõhus kõrge mitootilise indeksi saavutamiseks kromosoomide isoleerimiseks. Rakuliini võime sünkroniseerida ja toota metafaasirakke suure saagisega rõhutab veelgi selle sobivust üksikasjalikeks kromosoomianalüüsiks, sealhulgas DNA-sisalduse kvantifitseerimiseks ja kromosoomide leviku kõrgresolutsiooniga pildistamiseks.

Organism Opossum

Tissue Neerud, koore, proksimaalne tubuloos

Synonyms Opossumi neerud, OK-WT

Omadused

Age Täiskasvanud

Gender Naised

Morphology Epiteelilaadsed

Growth properties Monokihiline, kleepuv

Regulatiivsed andmed

OK rakud | 606465

Citation OK (Cytioni katalooginumber 606465)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9267

CellosaurusAccession CVCL_0472

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed Alfa2-adrenergilised, serotoniin, paratüreoidhormoon, kodade natriureetiline faktor

Töötlemine

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Split ratio Soovitav lahjendussuhe on 1:4 kuni 1:8

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

OK rakud | 606465

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

OK rakud | 606465

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.