Product sheet

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 plokke, 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 kromosoomianalüüsideks, 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

Product sheet

OK rakud | 606465

Citation	OK (Cytioni kataloginumber 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 rakkudelt 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 tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Split ratio	Soovitatav 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 kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °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 viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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°C, 5% $_{CO2}$, 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 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

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 ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.