

OK Solut | 606465

Yleisiä tietoja

Description

OK-solulinja on pysyvä epiteelin kaltainen soluviljelmä, joka on peräisin aikuisen amerikkalaisen opossumnaaraan (*Didelphis virginiana*) munuais kudoksesta. Tämä in vitro perustettu solulinja on tunnettu siitä, että sen ei-diploidinen kromosomien modaaliluku on 23 ja että se mukautuu kudosviljelyolosuhteisiin. Alun perin se oli peräisin sekasolutyypeistä, mutta kahdeksan läpikäynnin jälkeen se kehittyi pääasiassa epiteelisoluiksi. OK-solulinjaa on luonnehdittu laajasti morfologian, kromosomikoostumuksen ja kasvudynamiikan osalta, mikä tekee siitä vankan mallin sytogeneettisiin ja kromosomien eristämistutkimuksiin.

Yksi OK-solulinjan tärkeimmistä ominaisuuksista on sen hyödyllisyys kromosomitutkimuksissa, erityisesti nisäkkäiden X-kromosomin eristämisessä. Opossumin X-kromosomi on huomattavasti pienempi (noin 30 prosenttia pienempi kuin pienimmät autosomit) eikä sisällä suuria konstitutiivisen heterokromatiinin lohkoja, mikä helpottaa erottamista autosomeista virtauksen mikrofluorometrian ja gradienttisentrifugoinnin kaltaisilla tekniikoilla. OK-solujen vakaa karyotyyppi, jossa on erottuva metasentriininen merkkikromosomi, parantaa niiden käyttöä genomi- ja kromosomitutkimuksissa. Isän X-kromosomin ensisijainen inaktivoituminen tässä pussieläimessä tarjoaa vertailumallin nisäkkäiden X-kromosomin inaktivoitumisen taustalla olevien mekanismien tutkimiseen.

OK-solut ovat myös osoittaneet joustavuutta ja sopeutumiskykyä erilaisissa viljelyolosuhteissa, mukaan lukien seerumin vaihtelut ja erilaiset mitoosein pysäyttävät aineet, kuten Velban (vinblastiinisulfaatti), joka on erityisen tehokas, kun halutaan saavuttaa korkeat mitoosi-indeksit kromosomien eristämistä varten. Solulinjan kyky synkronoitua ja tuottaa suuria määriä metafasisoluja korostaa entisestään sen soveltuvuutta yksityiskohtaisiin kromosomianalyyseihin, kuten DNA-pitoisuuden kvantifointiin ja kromosomilevitysten korkean resoluution kuvantamiseen.

Organism Opossumi

Tissue Munuainen, aivokuori, proksimaalinen tubulus

Synonyms Opossumin munuainen, OK-WT

Ominaisuudet

Age Aikuiset

Gender Nainen

Morphology Epiteelin kaltainen

Growth properties Yksikerroksinen, tarttuva

Säätelytiedot

OK Solut | 606465

Citation OK (Cytionin luettelonumero 606465)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9267

CellosaurusAccession CVCL_0472

Biomolekyylitiedot

Receptors expressed Alfa2-adrenerginen, serotoniini, lisäkilpirauhashormoni, eteisnatriureettinen tekijä

Käsittely

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Split ratio Suositeltava jakosuhte on 1:4–1:8

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Freeze medium Kryosäilytysmediaana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

OK Solut | 606465

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

OK Solut | 606465

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.