Product sheet

OK Solut | 606465

Yleisiä tietoja

Description	OK-solulinja on pysyvä epiteelin kaltainen soluviljelmä, joka on peräisin aikuisen amerikkalaisen opossumnaaraan (Didelphis virginiana) munuaiskudoksesta. 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 metasentrinen 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 mitoosin 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 metafaasisoluja korostaa entisestään sen soveltuvuutta yksityiskohtaisiin kromosomianalyyseihin, kuten DNA-pitoisuuden kvantifiointiin 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

Sääntelytiedot

Product sheet

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 tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Split ratio	Suositeltava jakosuhde on 1:4–1:8
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

OK Solut | 606465

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.

2. Vastaanotettaessa 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 mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.

4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella 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 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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 kuivajäässä 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.

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

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.