Product sheet

OK sejtek | 606465

Általános információk

Description	Az OK sejtvonal egy felnőtt nőstény amerikai oposszum (Didelphis virginiana) veseszövetéből származó állandó epithelszerű sejtkultúra. Ez az in vitro létrehozott sejtvonal a 23-as nem-diploid kromoszóma-modális számával és a szövettenyésztési körülményekhez való alkalmazkodóképességével tűnik ki. A kezdetben vegyes sejttípusokból származó kultúra nyolc passzázs után túlnyomórészt epithelsejtekké alakult. Az OK sejtvonalat morfológia, kromoszóma-összetétel és növekedési dinamika szempontjából széleskörűen jellemezték, ami a citogenetikai és kromoszómaizolációs vizsgálatok robusztus modelljévé teszi. Az OK-sejtvonal egyik legfontosabb jellemzője a kromoszóma-vizsgálatokban való hasznossága, különösen az emlős X-kromoszóma izolálásában. Az oposszum X-kromoszóma jelentősen kisebb (körülbelül 30%-kal kisebb, mint a legkisebb autoszómák), és nem tartalmaz nagy blokkokat konstitutív heterokromatinból, ami megkönnyíti az autoszómáktól való elválasztást olyan technikákkal, mint az áramlási mikrofluorometria és a gradiens centrifugálás. Az OK sejtek stabil kariotípusa, a jellegzetes metacentrikus markerkromoszóma jelenlétével fokozza alkalmazásukat a genomikai és kromoszómakutatásokban. Az apai X-kromoszóma preferenciális inaktiválódása ebben az erszényesben összehasonlító modellt nyújt az emlősök X-kromoszóma inaktiválódásának hátterében álló mechanizmusok tanulmányozásához. Az OK sejtek emellett ellenállónak és alkalmazkodóképesnek bizonyultak különböző tenyésztési körülmények között, beleértve a szérumváltozásokat és különböző mitotikus megállító szereket, mint például a Velban (vinblasztin-szulfát), amely különösen hatékony a kromoszómaizoláláshoz szükséges magas mitotikus indexek eléréséhez. A sejtvonal szinkronizációs képessége és a metafázisú sejtek nagy hozamának előállítása tovább hangsúlyozza alkalmasságát részletes kromoszómaelemzésekre, beleértve a DNS-tartalom mennyiségi meghatározását és a kromoszómaeloszlás nagy felbontású képalkotását.
Organism	Oposszum
Tissue	Vese, kéreg, proximális tubulus
Synonyms	Oposszum vese, OK-WT

Jellemzők

Age	Felnőtt
Gender	Női
Morphology	Epithelszerű
Growth properties	Monoréteg, tapadó

Szabályozási adatok

Product sheet

OK sejtek | 606465

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

Biomolekuláris adatok

Receptors expressed	Alfa2-adrenerg, szerotonin, parathormon, pitvari nátriuretikus faktor

A kezelése

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)
Supplements	A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Split ratio	Ajánlott az 1:4 és 1:8 közötti keverési arány
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

OK sejtek | 606465

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.
Flask Coating	Nincs
Freezing Procedure	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Shipping Conditions	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.