Product sheet

Geros ląstelės | 606465

Bendra informacija

Description	OK ląstelių linija yra nuolatinė epitelio tipo ląstelių kultūra, gauta iš suaugusios amerikinio oposumo (Didelphis virginiana) patelės inkstų audinio. Ši in vitro sukurta ląstelių linija išsiskiria nediploidiniu 23 chromosomų modaliniu skaičiumi ir gebėjimu prisitaikyti prie audinių kultūros sąlygų. Iš pradžių gauta iš mišraus tipo ląstelių, tačiau po aštuonių evoliucijų kultūra tapo daugiausia epitelinėmis ląstelėmis. OK ląstelių linija buvo išsamiai apibūdinta morfologijos, chromosominės sudėties ir augimo dinamikos požiūriu, todėl ji yra patikimas modelis citogenetiniams ir chromosomų išskyrimo tyrimams. Vienas iš svarbiausių OK ląstelių linijos bruožų yra jos naudingumas chromosomų tyrimams, ypač žinduolių X chromosomos išskyrimui. Oposumo X chromosoma yra gerokai mažesnė (maždaug 30 % mažesnė už mažiausias autosomas) ir joje nėra didelių konstitucinio heterochromatino blokų, todėl ją lengviau atskirti nuo autosomų taikant tokius metodus kaip srauto mikrofluorometrija ir gradientinis centrifugavimas. Stabilus OK ląstelių kariotipas, turintis išskirtinę metacentrinę žymėtąją chromosomą, pagerina jų panaudojimą genominiuose ir chromosominiuose tyrimuose. Pirmenybinė tėvo X chromosomos inaktyvacija šiame marsupialyje yra lyginamasis modelis, leidžiantis tirti žinduolių X chromosomos inaktyvacijos mechanizmus. OK ląstelės taip pat pasižymėjo atsparumu ir gebėjimu prisitaikyti prie įvairių kultūros sąlygų, įskaitant serumo pokyčius ir įvairias mitozę stabdančias medžiagas, pavyzdžiui, Velbaną (vinblastino sulfatą), kuris yra ypač veiksmingas siekiant aukštų mitozės rodiklių chromosomų išskyrimui. Ląstelių linijos gebėjimas sinchronizuotis ir gauti didelį metafazinių ląstelių kiekį dar labiau pabrėžia jos tinkamumą išsamiems chromosomų tyrimams, įskaitant DNR kiekio kiekybinį nustatymą ir didelės skiriamosios gebos chromosomų išsidėstymo vaizdavimą.
Organism	Opossum
Tissue	Inkstai, žievė, proksimalinis kanalėlis
Synonyms	Opossum inkstai, OK-WT

Charakteristikos

Age	Suaugusiųjų
Gender	Moteris
Morphology	Į epitelį panašus
Growth properties	Viensluoksnis, prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	Gerai (Cytion katalogo numeris 606465)

Geros ląstelės | 606465

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9267
CellosaurusAccession	CVCL_0472

Biomolekuliniai duomenys

Receptors expressed	Alfa2-adrenerginis, serotoninas, paratiroidinis hormonas, prieširdžių natriuretinis faktorius

Tvarkymas

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Split ratio	Rekomenduojamas skaldymo santykis nuo 1:4 iki 1:8
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Geros ląstelės | 606465

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra
Freezing Procedure	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Geros ląstelės | 606465

Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.