Product sheet

Labi šūnas | 606465

Vispārīga informācija

Description	OK šūnu līnija ir pastāvīga epitēlijveida šūnu kultūra, kas iegūta no pieaugušas Amerikas oposuma (Didelphis virginiana) mātītes nieru audiem. Šī šūnu līnija, kas izveidota in vitro, izceļas ar nediploīdu hromosomu modālo skaitu - 23 - un pielāgojamību audu kultūras apstākļiem. Sākotnēji iegūta no jaukta tipa šūnām, pēc astoņām pasāžām kultūra attīstījās par pārsvarā epitēlija šūnām. OK šūnu līnija ir plaši raksturota attiecībā uz morfoloģiju, hromosomu sastāvu un augšanas dinamiku, padarot to par stabilu modeli citogenētiskiem un hromosomu izolācijas pētījumiem. Viena no galvenajām OK šūnu līnijas īpašībām ir tās lietderība hromosomu pētījumos, jo īpaši zīdītāju X hromosomas izolēšanā. Oposuma X hromosoma ir ievērojami mazāka (aptuveni par 30 % mazāka nekā vismazākās autosomas) un nesatur lielus konstitutīvā heterohromatīna blokus, kas atvieglo atdalīšanu no autosomām, izmantojot tādas metodes kā plūsmas mikrofluorometrija un gradientu centrifugācija. OK šūnu stabilais kariotips ar atšķirīgu metacentrisko marķieru hromosomu klātbūtni uzlabo to izmantošanu genomu un hromosomu pētījumos. Paternālās X hromosomas preferenciālā inaktivācija šajā purva zīdītājdzīvniekā ir salīdzinošs modelis, lai pētītu mehānismus, kas ir pamatā X hromosomas inaktivācijai zīdītāju organismā. OK šūnas ir arī pierādījušas elastību un spēju pielāgoties dažādiem kultūras apstākļiem, tostarp seruma variācijām un dažādiem mitozes aizturētājiem, piemēram, Velban (vinblastīna sulfāts), kas ir īpaši efektīvs, lai sasniegtu augstus mitozes rādītājus hromosomu izolācijai. Šūnu līnijas spēja sinhronizēties un ražot lielu metafāzes šūnu daudzumu vēl vairāk uzsver tās piemērotību detalizētām hromosomu analīzēm, tostarp DNS satura kvantitatīvai noteikšanai un hromosomu izkliedes augstas izšķirtspējas attēliem.
Organism	Oposums
Tissue	Nieres, garoza, proksimālais kanāliņš
Synonyms	Opossum nieres, OK-WT

Raksturojums

Age	Pieaugušo
Gender	Sievietes
Morphology	Epitēlijveidīgs
Growth properties	Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

Citation	OK (Cytion kataloga numurs 606465)

Labi šūnas | 606465

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9267
CellosaurusAccession	CVCL_0472

Biomolekulārie dati

Receptors expressed	Alfa2-adrenerģiskais, serotonīns, parathormons, priekškambaru natriuretiskais faktors

Darbs ar

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Split ratio	Ieteicamais sadalījuma attiecība ir no 1:4 līdz 1:8
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Labi šūnas | 606465

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Labi šūnas | 606465

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.