Product sheet

Komórki OK | 606465

Informacje ogólne

Description	Linia komórkowa OK to trwała nabłonkowa hodowla komórkowa pochodząca z tkanki nerkowej dorosłej samicy oposa amerykańskiego (Didelphis virginiana). Utworzona in vitro, ta linia komórkowa wyróżnia się niediploidalną liczbą chromosomów wynoszącą 23 i zdolnością adaptacji do warunków hodowli tkankowej. Początkowo pochodząca z mieszanych typów komórek, hodowla ewoluowała w kierunku głównie komórek nabłonkowych po ośmiu pasażach. Linia komórkowa OK została szeroko scharakteryzowana pod względem morfologii, budowy chromosomalnej i dynamiki wzrostu, co czyni ją solidnym modelem do badań cytogenetycznych i izolacji chromosomów. Jedną z kluczowych cech linii komórkowej OK jest jej przydatność w badaniach chromosomów, zwłaszcza do izolacji chromosomu X ssaków. Chromosom X oposa jest znacznie mniejszy (około 30% mniejszy niż najmniejszy autosom) i nie zawiera dużych bloków konstytutywnej heterochromatyny, co ułatwia oddzielenie go od autosomów za pomocą technik takich jak mikrofluorometria przepływowa i wirowanie gradientowe. Stabilny kariotyp komórek OK, z obecnością charakterystycznego metacentrycznego chromosomu markerowego, zwiększa ich zastosowanie w badaniach genomicznych i chromosomalnych. Preferencyjna inaktywacja ojcowskiego chromosomu X u tego torbacza stanowi model porównawczy do badania mechanizmów leżących u podstaw inaktywacji chromosomu X u ssaków. Komórki OK wykazały również odporność i zdolność adaptacji w różnych warunkach hodowli, w tym w zmianach surowicy i różnych czynnikach hamujących mitozę, takich jak Velban (siarczan winblastyny), który jest szczególnie skuteczny w osiąganiu wysokich wskaźników mitotycznych do izolacji chromosomów. Zdolność linii komórkowej do synchronizacji i produkcji wysokiej wydajności komórek metafazowych dodatkowo podkreśla jej przydatność do szczegółowych analiz chromosomalnych, w tym kwantyfikacji zawartości DNA i obrazowania rozprzestrzeniania się chromosomów w wysokiej rozdzielczości.
Organism	Opos
Tissue	Nerka, kora, kanalik proksymalny
Synonyms	Opossum Kidney, OK-WT

Charakterystyka

Age	Dorosły
Gender	Kobieta
Morphology	Podobny do nabłonka
Growth properties	Monowarstwa, przylegająca

Dane regulacyjne

Product sheet

Komórki OK | 606465

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

Dane biomolekularne

Receptors expressed	Alfa2-adrenergiczne, serotonina, hormon przytarczyc, przedsionkowy czynnik natriuretyczny

Obsługa

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecany jest stosunek podziału od 1:4 do 1:8
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki OK | 606465

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.

2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.

3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.

4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.

5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.

6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.

7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.

8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki OK | 606465

Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.