

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 osiągnięciu 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

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** Uzupelnic podloze 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 przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ 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 zawieszonych, 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% CO_2 , 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 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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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 / Profil genetyczny / HLA

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.