Product sheet

OK Células | 606465

Informações gerais

Description	A linha celular OK é uma cultura permanente de células de tipo epitelial derivada do tecido renal de uma fêmea adulta de gambá americano (Didelphis virginiana). Estabelecida in vitro, esta linha celular é notável pelo seu número cromossómico modal não diploide de 23 e pela sua adaptabilidade às condições de cultura de tecidos. Inicialmente derivada de tipos celulares mistos, a cultura evoluiu para células predominantemente epiteliais após oito passagens. A linha celular OK foi amplamente caracterizada em termos de morfologia, constituição cromossómica e dinâmica de crescimento, o que a torna um modelo robusto para estudos citogenéticos e de isolamento cromossómico. Uma das principais caraterísticas da linha celular OK é a sua utilidade em estudos cromossómicos, especialmente para o isolamento do cromossoma X dos mamíferos. O cromossoma X do gambá é significativamente mais pequeno (cerca de 30% mais pequeno do que os autossomas mais pequenos) e não contém grandes blocos de heterocromatina constitutiva, o que facilita a separação dos autossomas através de técnicas como a microfluorometria de fluxo e a centrifugação em gradiente. O cariótipo estável das células OK, com a presença de um cromossoma marcador metacêntrico distinto, aumenta a sua aplicação em estudos genómicos e cromossómicos. A inativação preferencial do cromossoma X paterno neste marsupial constitui um modelo comparativo para o estudo dos mecanismos subjacentes à inativação do cromossoma X nos mamíferos. As células OK também demonstraram resiliência e adaptabilidade em várias condições de cultura, incluindo variações de soro e diferentes agentes de bloqueio mitótico, como o Velban (sulfato de vinblastina), que é particularmente eficaz para obter índices mitóticos elevados para o isolamento dos cromossomas. A capacidade da linha celular para se sincronizar e produzir elevados rendimentos de células metafásicas sublinha ainda mais a sua aptidão para análises cromossómicas pormenorizadas, incluindo a quantificação do conteúdo de ADN e a obtenção de imagens de alta resolução de espalhamento cromossómico.
Organism	Gambá
Tissue	Rim, córtex, túbulo proximal
Synonyms	Rim de gambá, OK-WT

Caraterísticas

Age	Adulto
Gender	Feminino
Morphology	De tipo epitelial
Growth properties	Monocamada, aderente

Dados regulamentares

OK Células | 606465

Citation	OK (número de catálogo Cytion 606465)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9267
CellosaurusAccession	CVCL_0472

Dados biomoleculares

Receptors expressed	Alfa2-adrenérgico, serotonina, hormona paratiroideia, fator natriurético atrial

Manuseamento

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO3, com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Split ratio	Recomenda-se uma proporção de diluição de 1:4 a 1:8
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

OK Células | 606465

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.

2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.

3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.

4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.

5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.

6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.

7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.

8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera humidificada.
Flask Coating	Nenhum
Freezing Procedure	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility	A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência. Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.