

Celule OK | 606465

Informații generale

Description

Linia celulară OK este o cultură celulară permanentă de tip epitelial derivată din țesutul renal al unei femele adulte de oposum american (*Didelphis virginiana*). Stabilită in vitro, această linie celulară se remarcă prin numărul său modal cromozomial non-diploid de 23 și prin adaptabilitatea sa la condițiile de cultură a țesuturilor. Inițial derivată din tipuri mixte de celule, cultura a evoluat în celule predominant epiteliale după opt treceri. Linia celulară OK a fost caracterizată pe larg în ceea ce privește morfologia, constituția cromozomială și dinamica creșterii, devenind un model robust pentru studiile citogenetice și de izolare cromozomială.

Una dintre caracteristicile cheie ale liniei celulare OK este utilitatea sa în studiile cromozomiale, în special pentru izolarea cromozomului X al mamiferelor. Cromozomul X de oposum este semnificativ mai mic (cu aproximativ 30% mai mic decât cel mai mic autosom) și nu conține blocuri mari de heterocromatină constitutivă, facilitând separarea de autosomi prin tehnici precum microfluorometria de flux și centrifugarea în gradient. Cariotipul stabil al celulelor OK, cu prezența unui cromozom marker metacentric distinctiv, îmbunătățește aplicarea lor în studiile genomice și cromozomiale. Inactivarea preferențială a cromozomului X paternal la acest marsupial oferă un model comparativ pentru studierea mecanismelor care stau la baza inactivării cromozomului X la mamifere.

Celulele OK au demonstrat, de asemenea, rezistență și adaptabilitate în diferite condiții de cultură, inclusiv variații ale serului și diferiți agenți de arestare mitotică, precum Velban (vinblastin sulfat), care este deosebit de eficient pentru obținerea unor indici mitotici ridicați pentru izolarea cromozomilor. Capacitatea liniei celulare de a se sincroniza și de a produce randamente ridicate de celule în metafază subliniază și mai mult caracterul său adecvat pentru analize cromozomiale detaliate, inclusiv cuantificarea conținutului de ADN și imagistica de înaltă rezoluție a răspândirii cromozomiale.

Organism Oposum

Tissue Rinichi, cortex, tubul proximal

Synonyms Rinichi de oposum, OK-WT

Caracteristici

Age Adult

Gender Femei

Morphology De tip epitelial

Growth properties Monostrat, aderent

Date de reglementare

Celule OK | 606465

Citation OK (număr de catalog Cytion 606465)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9267

CellosaurusAccession CVCL_0472

Date biomoleculare

Receptors expressed Alfa2-adrenergic, serotonină, hormon paratiroidian, factor natriuretic atrial

Manipulare

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamină, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (număr articol Cytion 820100a)

Supplements Suplimentați mediul cu 10% FBS și 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.

Split ratio Se recomandă un raport de diluare de 1:4 până la 1:8

Fluid renewal de 2 până la 3 ori pe săptămână

Freeze medium Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule OK | 606465

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule OK | 606465

**Storage
Conditions**

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.