Product sheet

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 oprire 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

Product sheet

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	Suplimentaţi mediul cu 10% FBS şi 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Îndepărtaţi mediul vechi de pe celulele aderente şi spălaţi-le cu PBS care nu conţine calciu şi 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 şi 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsaţi celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detaşa. După incubare, amestecaţi uşor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugaţi la 300xg timp de 3 minute. Aruncaţi supernatantul, resuspendaţi celulele în mediu proaspăt şi transferaţi-le în flacoane noi care conţin 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 creştere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezgheţare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanţi optimizaţi şi stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea şi a reduce stresul indus de criogenie.

Celule OK | 606465

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmaţi că flaconul rămâne profund îngheţat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheaţă carbonică pentru a menţine temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitaţi crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrităţii celulare, fie treceţi la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezgheţaţi rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată şi un agent antimicrobian, agitându-l uşor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheaţă.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiţii sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat şi se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conţine 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând uşor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele şi se aruncă cu grijă supernatantul care conţine mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă uşor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărţiţi suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferaţi tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacţiunea şi creşterea celulară eficientă.
8. Respectaţi protocoalele de subcultură stabilite pentru creşterea şi menţinerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosferă umidificată.
Flask Coating	Niciuna
Freezing Procedure	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheaţă carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menţine aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul şi se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.
Shipping Conditions	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheaţă carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menţine aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul şi se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

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 și analiza moleculară

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.