Product sheet

Bunky OK | 606465

Všeobecné informácie

Description	Bunková línia OK je trvalá epitelová bunková kultúra odvodená z obličkového tkaniva dospelej samice vačice americkej (Didelphis virginiana). Táto bunková línia, vytvorená in vitro, sa vyznačuje nediploidným chromozómovým modálnym číslom 23 a prispôsobivosťou podmienkam tkanivovej kultúry. Kultúra pôvodne odvodená zo zmiešaných typov buniek sa po ôsmich pasážach vyvinula na prevažne epitelové bunky. Bunková línia OK bola podrobne charakterizovaná z hľadiska morfológie, chromozómovej konštitúcie a dynamiky rastu, čo z nej robí spoľahlivý model pre cytogenetické štúdie a štúdie izolácie chromozómov. Jednou z kľúčových vlastností bunkovej línie OK je jej využiteľnosť v chromozómových štúdiách, najmä na izoláciu chromozómu X cicavcov. Opossum X chromozóm je výrazne menší (približne o 30 % menší ako najmenšie autozómy) a neobsahuje veľké bloky konštitutívneho heterochromatínu, čo uľahčuje separáciu od autozómov pomocou techník, ako je prietoková mikrofluorometria a gradientová centrifugácia. Stabilný karyotyp OK buniek s prítomnosťou charakteristického metacentrického markerového chromozómu zlepšuje ich použitie v genomických a chromozomálnych štúdiách. Preferenčná inaktivácia otcovského chromozómu X u tohto vačkovca poskytuje porovnávací model na štúdium mechanizmov, ktoré sú základom inaktivácie chromozómu X u cicavcov. OK bunky tiež preukázali odolnosť a prispôsobivosť v rôznych kultivačných podmienkach vrátane variácií séra a rôznych mitotických látok, ako je Velban (vinblastín sulfát), ktorý je obzvlášť účinný na dosiahnutie vysokých mitotických indexov na izoláciu chromozómov. Schopnosť bunkovej línie synchronizovať sa a produkovať vysoké výťažky metafázových buniek ďalej zdôrazňuje jej vhodnosť na podrobné chromozomálne analýzy vrátane kvantifikácie obsahu DNA a zobrazovania chromozomálnych nánosov s vysokým rozlíšením.
Organism	Opossum
Tissue	Obličky, kôra, proximálny tubulus
Synonyms	Opossum Kidney, OK-WT

Charakteristika

Age	Dospelí
Gender	Ženy
Morphology	Epitelu podobné
Growth properties	Monovrstva, priliehajúca

Regulačné údaje

Product sheet

Bunky OK | 606465

Citation	OK (katalógové číslo Cytion 606465)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9267
CellosaurusAccession	CVCL_0472

Biomolekulárne údaje

Receptors expressed	Alfa2-adrenergný, serotonín, parathormón, atriálny natriuretický faktor

Spracovanie

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstreďujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Split ratio	Odporúča sa pomer zriedenia 1:4 až 1:8
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells	1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota. 2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia. 3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč. 4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom. 5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte. 6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média. 7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek. 8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žiadne
Freezing Procedure	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility	Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.