

## Bunky OK | 606465

## Všeobecné informácie

## Description

Bunková línia OK je trvalá epitelová bunková kultúra odvodená z obličkového tkaniva dospeljej samice vačice americkej (*Didelphis virginiana*). Táto bunková línia, vytvorená in vitro, sa vyznačuje nediploidným chromozómovým modálnym číslom 23 a prispôbivosťou 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 autozomy) a neobsahuje veľké bloky konštitutívneho heterochromatínu, čo uľahčuje separáciu od autozomov 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 chromozómálnych 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 prispôbivosť 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 chromozómálne analýzy vrátane kvantifikácie obsahu DNA a zobrazovania chromozómálnych 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

**Bunky OK | 606465****Citation** OK (katalógové číslo Cytion 606465)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9267**CellosaurusAccession** CVCL\_0472**Biomolekulárne údaje****Receptors expressed** Alfa2-adrenergny, serotonin, parathormon, atriálny natriuretický faktor**Spracovanie****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, 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 odstredujte 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 kompletne 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 regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

## Bunky OK | 606465

### 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  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 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  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  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  $300 \times g$  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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , 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  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  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  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky OK | 606465

### 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 / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.