

OK celice | 606465

Splošne informacije

Description

Celična linija OK je trajna epiteljska celična kultura, pridobljena iz ledvičnega tkiva odrasle samice ameriškega oposuma (*Didelphis virginiana*). Ta celična linija, ki je nastala in vitro, se odlikuje po nediploidnem kromosomskem modalnem številu 23 in prilagodljivosti pogojem tkivne kulture. Kultura, ki je sprva izvirala iz mešanih tipov celic, se je po osmih prehodih razvila v pretežno epiteljske celice. Celična linija OK je bila obsežno okarakterizirana z vidika morfologije, kromosomske sestave in dinamike rasti, zaradi česar je zanesljiv model za citogenetske študije in študije izolacije kromosomov.

Ena od ključnih značilnosti celične linije OK je njena uporabnost v študijah kromosomov, zlasti za izolacijo sesalskega kromosoma X. Kromosom X oposuma je bistveno manjši (približno 30 % manjši od najmanjših avtosomov) in ne vsebuje velikih blokov konstitutivnega heterokromatina, kar olajša ločevanje od avtosomov s tehnikami, kot sta pretočna mikrofluorometrija in gradientno centrifugiranje. Stabilen kariotip celic OK s prisotnostjo značilnega metacentričnega označevalnega kromosoma omogoča njihovo uporabo v genomskih in kromosomskih študijah. Prednostna inaktivacija očetovskega kromosoma X pri tem močeradu je primerjalni model za preučevanje mehanizmov, na katerih temelji inaktivacija kromosoma X pri sesalcih.

Celice OK so pokazale tudi odpornost in prilagodljivost v različnih pogojih gojenja, vključno z različnim serumom in različnimi sredstvi, ki zavirajo mitozo, kot je Velban (vinblastin sulfat), ki je posebej učinkovit za doseganje visokih mitotskih indeksov za izolacijo kromosomov. Sposobnost celične linije, da se sinhronizira in proizvaja velike količine metafaznih celic, še dodatno poudarja njeno primernost za podrobne kromosomske analize, vključno s kvantifikacijo vsebnosti DNK in slikanjem kromosomskih razpršitev z visoko ločljivostjo.

Organism Oposum

Tissue Ledvica, skorja, proksimalni kanalček

Synonyms Ledvica oposa, OK-WT

Značilnosti

Age Odrasli

Gender Ženske

Morphology Epitelijam podobni

Growth properties Enoslojni, adherentni

Regulativni podatki

Citation OK (kataloška številka Cytion 606465)

OK celice | 606465

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9267**CellosaurusAccession** CVCL_0472**Biomolekularni podatki****Receptors expressed** Alfa2-adrenergični, serotonin, parathormon, atrijski natriuretični faktor**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Split ratio** Priporoča se razmerje razredčenja od 1:4 do 1:8**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

OK celice | 606465

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

OK celice | 606465

**Storage
Conditions**

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.