Product sheet

Tamam Hücreler | 606465

Genel bilgi

Description	OK hücre hattı, yetişkin bir dişi Amerikan opossumunun (Didelphis virginiana) böbrek dokusundan elde edilen kalıcı epitel benzeri bir hücre kültürüdür. İn vitro olarak oluşturulan bu hücre hattı, 23 olan diploid olmayan kromozomal modal sayısı ve doku kültürü koşullarına uyarlanabilirliği ile dikkat çekmektedir. Başlangıçta karışık hücre tiplerinden türetilen kültür, sekiz pasajdan sonra ağırlıklı olarak epitelyal hücrelere dönüşmüştür. OK hücre hattı morfoloji, kromozomal yapı ve büyüme dinamikleri açısından kapsamlı bir şekilde karakterize edilmiştir ve bu da onu sitogenetik ve kromozom izolasyon çalışmaları için sağlam bir model haline getirmiştir. OK hücre hattının en önemli özelliklerinden biri, kromozom çalışmalarında, özellikle de memeli X kromozomunun izolasyonunda kullanılabilmesidir. Opossum X kromozomu önemli ölçüde daha küçüktür (en küçük otozomlardan yaklaşık %30 daha küçüktür) ve büyük kurucu heterokromatin blokları içermez, bu da akış mikroflorometrisi ve gradyan santrifüjleme gibi tekniklerle otozomlardan ayrılmayı kolaylaştırır. OK hücrelerinin kararlı karyotipi ve ayırt edici bir metasentrik marker kromozomun varlığı, genomik ve kromozomal çalışmalarda kullanımlarını artırmaktadır. Bu keseli hayvanda paternal X kromozomunun tercihli inaktivasyonu, memelilerde X kromozomu inaktivasyonunun altında yatan mekanizmaları incelemek için karşılaştırmalı bir model sağlar. OK hücreleri ayrıca serum varyasyonları ve kromozom izolasyonu için yüksek mitotik indeksler elde etmek için özellikle etkili olan Velban (vinblastin sülfat) gibi farklı mitotik tutuklayıcı ajanlar da dahil olmak üzere çeşitli kültür koşullarında esneklik ve uyarlanabilirlik göstermiştir. Hücre hattının senkronize olma ve yüksek verimle metafaz hücreleri üretme kabiliyeti, DNA içeriği ölçümü ve kromozomal yayılmaların yüksek çözünürlüklü görüntülenmesi de dahil olmak üzere ayrıntılı kromozomal analizler için uygunluğunun altını çizmektedir.
Organism	Opossum
Tissue	Böbrek, korteks, Proksimal tübül
Synonyms	Opossum Böbreği, OK-WT

Özellikler

Age	Yetişkin
Gender	Kadın
Morphology	Epitel benzeri
Growth properties	Tek katmanlı, yapışık

Düzenleyici Veriler

Tamam Hücreler | 606465

Citation	OK (Cytion katalog numarası 606465)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9267
CellosaurusAccession	CVCL_0472

Biyomoleküler Veriler

Receptors expressed	Alfa2-adrenerjik, serotonin, paratiroid hormonu, atriyal natriüretik faktör

Elleçleme

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion makale numarası 820100a)
Supplements	Ortamı %10 FBS ve %1 NEAA ile takviye edin
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.
Split ratio	1:4 ile 1:8 arası bir seyreltme oranı önerilir
Fluid renewal	haftada 2 ila 3 kez
Freeze medium	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Tamam Hücreler | 606465

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyoviali hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere	37°C, %5 $_{CO2}$, nemlendirilmiş atmosfer.
Flask Coating	Yok
Freezing Procedure	Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.
Shipping Conditions	Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Tamam Hücreler | 606465

Storage Conditions	Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz

Sterility	Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır. Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.