Product sheet

OK Cells | 606465

Загальна інформація

Description	Клітинна лінія OK - це постійна епітеліоподібна культура клітин, отримана з тканини нирок дорослої самки американського опосума (Didelphis virginiana). Створена in vitro, ця клітинна лінія вирізняється своїм не диплоїдним хромосомним модальним числом 23 і пристосованістю до умов культивування тканин. Спочатку отримана зі змішаних типів клітин, культура еволюціонувала в переважно епітеліальні клітини після восьми пасажів. Клітинна лінія OK була детально охарактеризована з точки зору морфології, хромосомного складу та динаміки росту, що робить її надійною моделлю для цитогенетичних досліджень та досліджень з виділення хромосом. Однією з ключових особливостей клітинної лінії OK є її корисність у хромосомних дослідженнях, особливо для виділення X-хромосоми ссавців. X-хромосома опосума значно менша (приблизно на 30% менша за найменші аутосоми) і не містить великих блоків конститутивного гетерохроматину, що полегшує її відокремлення від аутосом за допомогою таких методів, як проточна мікрофлуориметрія та градієнтне центрифугування. Стабільний каріотип OK-клітин з наявністю характерної метацентричної маркерної хромосоми розширює можливості їх застосування в геномних і хромосомних дослідженнях. Переважна інактивація батьківської X-хромосоми у цього сумчастого є порівняльною моделлю для вивчення механізмів, що лежать в основі інактивації X-хромосоми у ссавців. Клітини OK також продемонстрували стійкість та адаптивність до різних умов культивування, включаючи варіації сироватки крові та різні агенти, що зупиняють мітоз, такі як Велбан (вінбластин сульфат), який є особливо ефективним для досягнення високих мітотичних індексів для виділення хромосом. Здатність клітинної лінії синхронізуватися і давати високий вихід метафазних клітин ще раз підкреслює її придатність для детального хромосомного аналізу, включаючи кількісне визначення вмісту ДНК і візуалізацію хромосомних розширень з високою роздільною здатністю.
Organism	Опосум
Tissue	Нирка, кора, проксимальні канальці
Synonyms	Нирка опосума, OK-WT

Характеристики

Age	Дорослий
Gender	Жінка
Morphology	Епітеліальноподібні
Growth properties	Одношаровий, адгезійний

Нормативні дані

Product sheet

OK Cells | 606465

Citation	OK (код за каталогом 606465)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9267
CellosaurusAccession	CVCL_0472

Біомолекулярні дані

Receptors expressed	Альфа2-адренергічні, серотонін, паратиреоїдний гормон, передсердний натрійуретичний фактор

Обробка

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 мМ L-глутамін, w: 2,2 г/л NaHCO3, w: EBSS (цит. номер 820100a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS та 1% NEAA
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Split ratio	Рекомендується коефіцієнт розведення від 1:4 до 1:8
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.

7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.

8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.