

OK Cells | 606465

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія ОК - 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 ОК 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 ОК 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 ОК-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 ОК 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 каналці

Synonyms Нирка опосума, ОК-WT

Характеристики

Age Дорослий

Gender Жінка

Morphology Епітеліальноподібні

Growth properties Одношаровий, адгезійний

Нормативні дані

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 mM 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 криоконсервування 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 криоіндукованого стресу.

OK Cells | 606465

**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, зануливши 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 $300 \times g$ 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. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній 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.

OK Cells | 606465

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих 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.

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 / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.