

OK Células | 606465

Informações gerais

Description

A linhagem celular OK é uma cultura celular permanente de tipo epitelial derivada do tecido renal de uma fêmea adulta de gambá-americano (*Didelphis virginiana*). Estabelecida in vitro, essa linhagem celular se destaca por seu número modal cromossômico não diploide de 23 e por sua adaptabilidade às condições de cultura de tecidos. Inicialmente derivada de tipos celulares mistos, a cultura evoluiu para células predominantemente epiteliais após oito passagens. A linhagem celular OK foi amplamente caracterizada em termos de morfologia, constituição cromossômica e dinâmica de crescimento, tornando-se um modelo robusto para estudos citogenéticos e de isolamento de cromossomos.

Uma das principais características da linhagem celular OK é sua utilidade em estudos cromossômicos, especialmente para o isolamento do cromossomo X de mamíferos. O cromossomo X da sariguêia é significativamente menor (aproximadamente 30% menor que os autossomos menores) e não contém grandes blocos de heterocromatina constitutiva, facilitando a separação dos autossomos por meio de técnicas como microfluorometria de fluxo e centrifugação em gradiente. O cariótipo estável das células OK, com a presença de um cromossomo marcador metacêntrico característico, amplia sua aplicação em estudos genômicos e cromossômicos. A inativação preferencial do cromossomo X paterno nesse marsupial fornece um modelo comparativo para o estudo dos mecanismos subjacentes à inativação do cromossomo X em mamíferos.

As células OK também demonstraram resiliência e adaptabilidade em várias condições de cultura, incluindo variações de soro e diferentes agentes de parada mitótica, como o Velban (sulfato de vinblastina), que é particularmente eficaz para alcançar altos índices mitóticos para o isolamento cromossômico. A capacidade da linhagem celular de sincronizar e produzir altos rendimentos de células em metáfase ressalta ainda mais sua adequação para análises cromossômicas detalhadas, incluindo a quantificação do conteúdo de DNA e a obtenção de imagens de alta resolução de espalhamentos cromossômicos.

Organism Gambá

Tissue Rim, córtex, túbulo proximal

Synonyms Rim de gambá, OK-WT

Características

Age Adulto

Gender Mulher

Morphology De tipo epitelial

Growth properties Monocamada, aderente

Dados regulatórios

OK Células | 606465

Citation OK (número de catálogo da Cytion 606465)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9267

CellosaurusAccession CVCL_0472

Dados biomoleculares

Receptors expressed Receptores alfa-2-adrenérgicos, serotonina, hormônio paratireóideo, fator natriurético atrial

Manuseio

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), contendo: 2 mM de L-glutamina, contendo: 2,2 g/L de NaHCO₃, contendo: EBSS (número de artigo da Cytion 820100a)

Supplements Adicione ao meio 10% de FBS e 1% de NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

OK Células | 606465

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

OK Células | 606465

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.