Product sheet

Buňky OLN-93 | 305848

Obecné informace

Description	OLN-93 je trvalá oligodendrogliální buněčná linie odvozená z primárních gliových kultur mozku novorozených potkanů. Tato buněčná linie vznikla ze spontánně transformovaných buněk ve smíšených gliových kulturách a vyznačuje se tím, že si i při dlouhodobé kultivaci zachovává stabilní oligodendrogliální vlastnosti. Buňky OLN-93 se v přítomnosti séra nepřetržitě množí s dobou zdvojnásobení přibližně 16–18 hodin a zachovávají si klíčové vlastnosti diferencovaných oligodendrocytů. Imunocytochemické a biochemické analýzy ukazují, že tyto buňky exprimují hlavní markery specifické pro myelin, včetně galaktocerebrosidu (GC), myelinového bazického proteinu (MBP), myelinového asociovaného glykoproteinu (MAG), proteolipidového proteinu (PLP) a Wolfgramova proteinu (WP). Exprese PLP a jeho alternativně sestříhané izoformy DM20 byla potvrzena na úrovni mRNA pomocí RT-PCR. Důležité je, že buňky OLN-93 nevyjadřují astrocytární markery vimentin a kyselý fibrilární protein glií (GFAP), ani marker prekurzorů oligodendrocytů A2B5, což naznačuje diferencovaný fenotyp, který není prekurzorový. Morfologicky vykazují buňky za standardních kultivačních podmínek bipolární vzhled a při pěstování v nízké hustotě nebo v prostředí s nízkým obsahem séra vyvíjejí stromovité výběžky, připomínající nezralé nebo časně postnatální oligodendrocyty. Tyto vlastnosti činí z OLN-93 cenný model pro studium diferenciace oligodendrocytů, exprese myelinových proteinů a interakcí s neurony nebo jinými typy gliových buněk in vitro. Buňky OLN-93 byly také geneticky modifikovány za účelem studia procesů neurodegenerativních onemocnění. Například při transfekci k expresi lidského α-synukleinu (včetně mutace A53T) a tau proteinu slouží jako model pro zkoumání mechanismů agregace proteinů pod vlivem stresu. Při vystavení oxidačnímu a proteazomálnímu stresu tvoří buňky OLN-93 agregáty pozitivní na tioflavin S, které se kolokalizují s α-synukleinem, tau a αB-krystalinem, což připomíná gliové cytoplazmatické inkluze pozorované u synukleino-patií, jako je například multisystémová atrofie. Tyto stresem vyvolané změny v rozpustnosti proteinů a složení agregátů podtrhují užitečnost OLN-93 jako modelového systému pro zkoumání proteostázy, biologie chaperonů a buněčných reakcí oligodendrocytů na patologickou agregaci proteinů.
Organism	Krysy
Tissue	Mozek
Synonyms	OLN93, OLN 93

Charakteristika

Age	1 den
Gender	Pohlaví nespecifikováno
Cell type	oligodendrocyt
Growth properties	Adherentní

Product sheet

Buňky OLN-93 | 305848

Regulační údaje

Citation	OLN-93 (katalogové číslo Cytion 305848)
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_5850

Biomolekulární data

Mutational profile	

Zpracování

Culture Medium	DMEM, obsah: 4,5 g/l glukózy, obsah: 4 mM L-glutaminu, obsah: 3,7 g/l $NaHCO_3$, obsah: 1,0 mM pyruvátu sodného, 10 % FBS
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase, 5 minut při 37 °C
Seeding density	$1–3 \times 10^4$ buněk/cm^2
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells	1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty. 2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace. 3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec. 4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem. 5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte. 6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte. 7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk. 8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Buňky OLN-93 | 305848

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.