Product sheet

OLN-93 rakud | 305848

Üldine teave

Description	OLN-93 on püsiv oligodendrogliaalsete rakkude liin, mis on saadud vastsündinud roti aju esmasest gliaalkultuurist. See rakuliin pärineb segaglialkultuurides spontaanselt transformeerunud rakkudest ning selle puhul on täheldatud, et see säilitab pikaajalise kultiveerimise jooksul stabiilsed oligodendrogliaalsed omadused. OLN-93 rakud paljunevad pidevalt seerumi juuresolekul, kahekordistumisaeg on umbes 16–18 tundi, ning säilitavad diferentseerunud oligodendrotsüütide põhiomadused. Immunotsütokeemilised ja biokeemilised analüüsid näitavad, et need rakud ekspresseerivad peamisi müeliinispetsiifilisi markereid, sealhulgas galaktotserebrosiidi (GC), müeliini põhilist valku (MBP), müeliiniga seotud glükoproteiini (MAG), proteolipiidvalku (PLP) ja Wolfgrami valku (WP). PLP ja selle alternatiivselt splaissitud isoformi DM20 ekspressioon on kinnitatud mRNA tasandil RT-PCR-i abil. Oluline on see, et OLN-93 rakud ei ekspressi astrotsüütide markereid vimentiini ja gliaalset fibrillaarset happelist valku (GFAP) ega oligodendrotsüütide eellaste markeri A2B5, mis viitab diferentseeritud, mitte-eellaste fenotüübile. Morfoloogiliselt näitavad rakud standardsetes kultiveerimistingimustes bipolaarset välimust ja arendavad hargnenud protsesse, kui neid kasvatatakse madalas tiheduses või madala seerumisisaldusega keskkondades, meenutades ebaküpset või varajast postnataalset oligodendrotsüüti. Need omadused teevad OLN-93-st väärtusliku mudeli oligodendrotsüütide diferentseerumise, müeliinvalgu ekspressiooni ja interaktsioonide uurimiseks neuronite või teiste gliaalsete rakutüüpidega in vitro. OLN-93 rakke on ka geneetiliselt muundatud neurodegeneratiivsete haiguste protsesside uurimiseks. Näiteks, kui neid transfekteeritakse inimese α-sünukleiini (sh A53T-mutant) ja tau-valgu ekspresseerimiseks, toimivad need mudelina valkude agregatsiooni mehhanismide uurimiseks stressi tingimustes. Oksüdatiivse ja proteasoomse stressi mõjul moodustavad OLN-93 rakud tioflaviin S-positiivseid agregaate, mis asuvad samas kohas α-sünukleiini, tau ja αB-kristalliiniga, meenutades gliaalsete tsütoplasma inkluusioone, mida on täheldatud sünukleiinopaatiate, nagu mitme süsteemi atroofia, puhul. Need stressist tingitud muutused valkude lahustuvuses ja agregaatide koostises rõhutavad OLN-93 kasulikkust mudelisüsteemina proteostaasi, šaperonide bioloogia ja oligodendrotsüütide rakuliste reaktsioonide uurimiseks patoloogilisele valkude agregatsioonile.
Organism	Rott
Tissue	Aju
Synonyms	OLN93, OLN 93

Omadused

Age	1 päev
Gender	Täpsustamata sugu
Cell type	oligodendrotsüüt

OLN-93 rakud | 305848

Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	OLN-93 (Cytioni kataloginumber 305848)
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_5850

Biomolekulaarsed andmed

Mutational profile	

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, sisaldab: 4,5 g/l glükoosi, sisaldab: 4 mM L-glutamiini, sisaldab: 3,7 g/l $NaHCO_3$, sisaldab: 1,0 mM naatriumpüruvaati, 10% FBS
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase 5 minutit 37 °C juures
Seeding density	1–3 × 10^4 rakku/cm^2
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp. 4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga. 5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu. 8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

OLN-93 rakud | 305848

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.