Product sheet

OLN-93 ląstelės | 305848

Bendra informacija

Description	OLN-93 yra nuolatinė oligodendroglialinė ląstelių linija, gauta iš naujagimių žiurkių smegenų pirminių glijos kultūrų. Ši ląstelių linija kilo iš savaime transformuotų ląstelių mišriose glijos kultūrose ir buvo apibūdinta kaip išlaikanti stabilias oligodendroglialines savybes per ilgus kultivavimo laikotarpius. OLN-93 ląstelės nuolat dauginasi esant serumui, jų dvigubėjimo laikas yra maždaug 16–18 valandų, ir jos išlaiko pagrindines diferencijuotų oligodendrocitų savybes. Imunocitocheminės ir biocheminės analizės rodo, kad šios ląstelės ekspresuoja pagrindinius mielinui būdingus žymeklius, įskaitant galaktocebrozidą (GC), mielino bazinį baltymą (MBP), su mielinu susijusį glikoproteiną (MAG), proteolipidinį baltymą (PLP) ir Wolfgramo baltymą (WP). PLP ir jo alternatyviai sujungtos izoformos DM20 ekspresija buvo patvirtinta mRNR lygmeniu naudojant RT-PCR. Svarbu tai, kad OLN-93 ląstelės neišreiškia astrocitų žymenų vimentino ir glialinio fibriliarinio rūgštinio baltymo (GFAP), nei oligodendrocitų pirmtakų žymens A2B5, o tai rodo diferencijuotą, ne pirmtakų fenotipą. Morfologiškai ląstelės standartinėmis kultivavimo sąlygomis atrodo bipoliariškai, o augdamos mažo tankio arba mažo serumo aplinkoje išaugina šakotąsias ataugas, primenančias nesubrendusius arba ankstyvuosius postnatalinius oligodendrocitus. Šios savybės daro OLN-93 vertingą modelį oligodendrocitų diferenciacijos, mielino baltymų ekspresijos ir sąveikos su neuronais ar kitais glialinių ląstelių tipais in vitro tyrimams. OLN-93 ląstelės taip pat buvo genetiškai modifikuotos neurodegeneracinių ligų procesams tirti. Pavyzdžiui, kai jos transfekuojamos žmogaus α-sinukleino (įskaitant A53T mutaciją) ir tau baltymo ekspresijai, jos tarnauja kaip modelis baltymų agregacijos mechanizmams esant stresui tirti. Veikiamos oksidacinio ir proteasominio streso, OLN-93 ląstelės sudaro tioflavino S teigiamus agregatus, kurie kolokalizuojasi su α-sinukleiną, tau ir αB-kristaliną, primindami glialinių ląstelių citoplazminius intarpus, pastebimus sinukleinopatijose, tokiose kaip dauginė sisteminė atrofija. Šie streso sukeliami baltymų tirpumo ir agregatų sudėties pokyčiai pabrėžia OLN-93 naudą kaip modelio sistemos, skirtos tirti proteostazę, chaperonų biologiją ir oligodendrocitų ląstelių reakcijas į patologinę baltymų agregaciją.
Organism	Žiurkės
Tissue	Smegenys
Synonyms	OLN93, OLN 93

Charakteristikos

Age	1 diena
Gender	Lytis nenurodyta
Cell type	Oligodendrocitas
Growth properties	Prigludęs

OLN-93 ląstelės | 305848

Reguliavimo duomenys

Citation	OLN-93 (Cytion katalogo numeris 305848)
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_5850

Biomolekuliniai duomenys

Mutational profile	

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, sudėtyje: 4,5 g/l gliukozės, 4 mM L-glutamino, 3,7 g/l $NaHCO_3$, 1,0 mM natrio piruvato, 10 % FBS
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	„Accutase“ 5 min. 37 °C
Seeding density	1–3 × 10^4 ląstelių/cm^2
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

OLN-93 ląstelės | 305848

Thawing and Culturing Cells	1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra. 2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti. 3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis. 4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu. 5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite. 6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais. 7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą. 8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra
Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

OLN-93 ląstelės | 305848

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.