

OLN-93 šūnas | 305848

Vispārīga informācija

Description

OLN-93 ir pastāvīga oligodendrogliālu šūnu līnija, kas iegūta no jaundzimušo žurku smadzeņu primārajām glijas kultūrām. Šī šūnu līnija cēlusies no spontāni transformētām šūnām jauktās glijas kultūrās, un tās raksturīga iezīme ir stabila oligodendrogliālu īpašību saglabāšana ilgstošas kultivēšanas laikā. OLN-93 šūnas nepārtraukti vairojas seruma klātbūtnē, to dubultošanās laiks ir aptuveni 16–18 stundas, un tās saglabā diferencētu oligodendrocītu galvenās īpašības. Imunocitohīmiskās un bioķīmiskās analīzes liecina, ka šīs šūnas ekspresē galvenos mielīnam specifiskos marķierus, tostarp galaktocebrezīdu (GC), mielīna pamatproteīnu (MBP), mielīnam asociēto glikoproteīnu (MAG), proteolipīdu proteīnu (PLP) un Volfgroma proteīnu (WP). PLP un tā alternatīvi sašūto izoformas DM20 ekspresija ir apstiprināta mRNA līmenī, izmantojot RT-PCR.

Svarīgi, ka OLN-93 šūnas neekspresē astrocītu marķierus vimentīnu un gliālo fibrilāro skābo proteīnu (GFAP), kā arī oligodendrocītu priekšteču marķieri A2B5, kas norāda uz diferencētu, ne-priekšteču fenotipu. Morfoloģiski šīs šūnas standarta kultivēšanas apstākļos izskatās bipolāras un, augot zemā blīvumā vai vidē ar zemu seruma saturu, attīsta zarveida izaugumus, atgādinot nenobriedušus vai agrīnās pēcdzemdību stadijas oligodendrocītus. Šīs īpašības padara OLN-93 par vērtīgu modeli oligodendrocītu diferenciācijas, mielīna proteīnu ekspresijas un mijiedarbības ar neironiem vai citiem gliālo šūnu tipiem in vitro pētīšanai.

OLN-93 šūnas ir arī ģenētiski modificētas, lai pētītu neirodeģeneratīvo slimību procesus. Piemēram, ja tās tiek transfekcijas ceļā modificētas, lai ekspresētu cilvēka α -sinukleīnu (ieskaitot A53T mutāciju) un tau proteīnu, tās kalpo kā modelis, lai pētītu proteīnu agregācijas mehānismus stresa apstākļos. Pēc pakļaušanas oksidatīvam un proteasomālajam stresam OLN-93 šūnas veido tioflavīna S-pozitīvus agregātus, kas kolokalizējas ar α -sinukleīnu, tau un α B-kristalīnu, atgādinot glijas citoplazmatiskos ieslēgumus, kas novēroti sinukleīnopātijās, piemēram, daudzu sistēmu atrofijā. Šis stresa izraisītās izmaiņas proteīnu šķīdībā un agregātu sastāvā uzsver OLN-93 lietderību kā modelisistēmu proteostāzes, šaperonu bioloģijas un oligodendrocītu šūnu reakciju uz patoloģisku proteīnu agregāciju izpētei.

Organism Žurkas

Tissue Smadzenes

Synonyms OLN93, OLN 93

Raksturojums

Age 1 diena

Gender Dzimums nav precizēts

Cell type Oligodendrocīts

Growth properties Adherent

OLN-93 šūnas | 305848

Normatīvie dati

Citation	OLN-93 (Cytion kataloga numurs 305848)
-----------------	--

NCBI_TaxID	10116
-------------------	-------

CellosaurusAccession	CVCL_5850
-----------------------------	-----------

Biomolekulārie dati

Mutational profile	
---------------------------	--

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, saturs: 4,5 g/l glikozes, saturs: 4 mM L-glutamīna, saturs: 3,7 g/l NaHCO ₃ , saturs: 1,0 mM nātrija piruvāta, 10 % FBS
-----------------------	--

Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
--------------------	-------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase 5 minūtes 37 °C
-----------------------------	--------------------------

Seeding density	1–3 x 10 ⁴ šūnas/cm ²
------------------------	---

Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
----------------------	---

OLN-93 šūnas | 305848

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

OLN-93 šūnas | 305848

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.