Product sheet

OLN-93 šūnas | 305848

Vispārīga informācija

Description	OLN-93 ir pastāvīga oligodendroglialu 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 stabilu oligodendroglialu 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 galaktocebrezidu (GC), mielīna pamatproteīnu (MBP), mielīnam asociēto glikoproteīnu (MAG), proteolipīdu proteīnu (PLP) un Volfgrama 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 αB-kristalīnu, atgādinot glijas citoplazmatiskos ieslēgumus, kas novēroti sinukleīnopātijās, piemēram, daudzu sistēmu atrofijā. Šīs 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, satura: 4,5 g/l glikozes, satura: 4 mM L-glutamīna, satura: 3,7 g/l $NaHCO_3$, satura: 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% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma 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 slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

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.