Product sheet

Komórki OLN-93 | 305848

Informacje ogólne

Description	OLN-93 to stała linia komórkowa oligodendroglialna wyhodowana z pierwotnych hodowli komórek glejowych mózgu noworodków szczurów. Linia ta pochodzi ze spontanicznie transformowanych komórek w mieszanych hodowlach glejowych i charakteryzuje się zachowaniem stabilnych właściwości oligodendroglialnych przez długi okres hodowli. Komórki OLN-93 namnażają się w sposób ciągły w obecności surowicy, a czas podwojenia wynosi około 16–18 godzin; zachowują one kluczowe cechy zróżnicowanych oligodendrocytów. Analizy immunocytochemiczne i biochemiczne wykazują, że komórki te wyrażają główne markery specyficzne dla mieliny, w tym galaktocebrozyd (GC), białko podstawowe mieliny (MBP), glikoproteinę związaną z mieliną (MAG), białko proteolipidowe (PLP) oraz białko Wolfgrama (WP). Ekspresję PLP i jego alternatywnie splicowanej izoformy DM20 potwierdzono na poziomie mRNA za pomocą RT-PCR. Co istotne, komórki OLN-93 nie wykazują ekspresji markerów astrocytów, takich jak wimentyna i kwaśne białko włókniste gleju (GFAP), ani markera prekursorów oligodendrocytów A2B5, co wskazuje na zróżnicowany fenotyp, niebędący fenotypem prekursorowym. Pod względem morfologicznym komórki te wykazują wygląd dwubiegunowy w standardowych warunkach hodowli i rozwijają rozgałęzione wypustki, gdy są hodowane w niskiej gęstości lub w środowisku o niskiej zawartości surowicy, przypominając niedojrzałe lub wczesne poporodowe oligodendrocyty. Cechy te sprawiają, że OLN-93 są cennym modelem do badania różnicowania oligodendrocytów, ekspresji białek mieliny oraz interakcji z neuronami lub innymi typami komórek glejowych in vitro. Komórki OLN-93 zostały również zmodyfikowane genetycznie w celu badania procesów chorób neurodegeneracyjnych. Na przykład, po transfekcji w celu ekspresji ludzkiej α-synukleiny (w tym mutanta A53T) i białka tau, służą one jako model do badania mechanizmów agregacji białek w warunkach stresu. Po ekspozycji na stres oksydacyjny i proteasomalny komórki OLN-93 tworzą agregaty pozytywne w teoflawinie S, które kolokalizują się z α-synukleiną, tau i αB-krystaliną, przypominając wtręty cytoplazmatyczne komórek glejowych obserwowane w synukleinopatiach, takich jak zanik wieloukładowy. Te wywołane stresem zmiany rozpuszczalności białek i składu agregatów podkreślają przydatność OLN-93 jako systemu modelowego do badania proteostazy, biologii białek opiekuńczych oraz odpowiedzi komórkowych oligodendrocytów na patologiczną agregację białek.
Organism	Szczur
Tissue	Mózg
Synonyms	OLN93, OLN 93

Charakterystyka

Age	1 dzień
Gender	Płeć nieokreślona
Cell type	oligodendrocyt

Komórki OLN-93 | 305848

Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	OLN-93 (numer katalogowy Cytion 305848)
NCBI_TaxID	10116
CellosaurusAccession	CVCL_5850

Dane biomolekularne

Mutational profile	

Obsługa

Culture Medium	DMEM, zawierający: 4,5 g/l glukozy, 4 mM L-glutaminy, 3,7 g/l $NaHCO_3$, 1,0 mM pirogronianu sodu oraz 10% surowicy płodowej bydlęcej (FBS)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase – 5 minut w temperaturze 37°C
Seeding density	$1–3 \times 10^4$ komórek/cm^2
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki OLN-93 | 305848

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.

2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.

3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.

4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.

5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.

6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.

7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.

8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.