

Bunky OLN-93 | 305848**Všeobecné informácie****Description**

OLN-93 je trvalá oligodendroglialna bunková línia odvodená z primárnych gliových kultúr mozgu novorodených potkanov. Táto bunková línia vznikla zo spontánne transformovaných buniek v zmiešaných gliových kultúrach a vyznačuje sa tým, že si počas dlhších kultivačných období zachováva stabilné oligodendroglialne vlastnosti. Bunky OLN-93 sa v prítomnosti séra nepretržite množia s dobou zdvojnásobenia približne 16–18 hodín a zachovávajú kľúčové vlastnosti diferencovaných oligodendrocytov. Imunocytochemické a biochemické analýzy preukazujú, že tieto bunky exprimujú hlavné markery špecifické pre myelín, vrátane galaktocerebrozidu (GC), základného proteínu myelínu (MBP), glykoproteínu asociovaného s myelínom (MAG), proteolipidového proteínu (PLP) a Wolfgramovho proteínu (WP). Expresia PLP a jeho alternatívne splicovanej izoformy DM20 bola potvrdená na úrovni mRNA pomocou RT-PCR.

Dôležité je, že bunky OLN-93 nevyjadrujú astrocytové markery vimentín a kyselý fibrilárny proteín gliových buniek (GFAP), ani marker prekursorov oligodendrocytov A2B5, čo naznačuje diferencovaný fenotyp, ktorý nie je prekursorový. Morfológicky vykazujú bunky bipolárny vzhľad za štandardných kultivačných podmienok a pri pestovaní pri nízkej hustote alebo v prostredí s nízkym obsahom séra vyvíjajú stromovité výbežky, čím pripomínajú nezrelé alebo rané postnatálne oligodendrocyty. Tieto charakteristiky robia z OLN-93 cenný model na štúdium diferenciácie oligodendrocytov, expresie myelínových proteínov a interakcií s neurónmi alebo inými typmi gliových buniek in vitro.

Bunky OLN-93 boli tiež geneticky modifikované na štúdium procesov neurodegeneratívnych ochorení. Napríklad pri transfekcii na expresiu ľudského α -synukleínu (vrátane mutantu A53T) a tau proteínu slúžia ako model na skúmanie mechanizmov agregácie proteínov pod vplyvom stresu. Po vystavení oxidačnému a proteazómovému stresu tvoria bunky OLN-93 agregáty pozitívne na tioflavín S, ktoré sa kolokalizujú s α -synukleínom, tau a α B-kryštalinom, čím pripomínajú glialové cytoplazmatické inklúzie pozorované pri synukleínopatiách, ako je napríklad multisystémová atrofia. Tieto stresom indukované zmeny rozpustnosti proteínov a zloženia agregátov podčiarkujú užitočnosť OLN-93 ako modelového systému na skúmanie proteostázy, biológie chaperónov a bunkových reakcií oligodendrocytov na patologickú agregáciu proteínov.

Organism Krysy**Tissue** Mozog**Synonyms** OLN93, OLN 93**Charakteristika****Age** 1 deň**Gender** Pohlavie nešpecifikované**Cell type** oligodendrocyt**Growth properties** Adherent

Bunky OLN-93 | 305848**Regulačné údaje****Citation** OLN-93 (katalógové číslo Cytion 305848)**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_5850**Biomolekulárne údaje****Mutational profile****Spracovanie****Culture Medium** DMEM, hmotnostný obsah: 4,5 g/l glukózy, hmotnostný obsah: 4 mM L-glutamínu, hmotnostný obsah: 3,7 g/l NaHCO₃, hmotnostný obsah: 1,0 mM sodného pyruvátu, 10 % FBS**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase 5 minút pri 37 °C**Seeding density** $1-3 \times 10^4$ buniek/cm²**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky OLN-93 | 305848**Thawing and
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Skladovanie pri teplote $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Bunky OLN-93 | 305848

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.