

Клетки LN229 | 305043

Обща информация

Description

LN229 е човешка клетъчна линия на глиобластом, получена от 60-годишна пациентка от бялата раса с мултиформен глиобластом (ГБМ), по-специално от дясната фронтална парието-окципитална кора. Глиобластомът е една от най-агресивните и смъртоносни форми на рак на мозъка, а клетките LN229 се използват широко в изследванията, за да се разберат молекулярните основи на заболяването и да се разработят потенциални терапевтични стратегии. Клетките имат епителноподобна морфология и притежават адхезивни свойства на растеж, което ги прави идеални за *in vitro* изследвания. Като се има предвид високият им туморогенен потенциал, те лесно образуват тумори при инжектиране в голи мишки, което ги прави надежден модел за изследване на рака.

Една от критичните характеристики на клетките LN229 е наличието на мутирал ген p53 (TP53) със специфична мутация от CCT (Pro) към CTT (Leu) в кодон 98. Тази мутация допринася в значителна степен за агресивното поведение на клетъчната линия и устойчивостта ѝ на апоптоза. Освен това клетките LN229 имат див тип ген PTEN, но при тях се наблюдават хомозиготни делеции в туморните супресорни гени p16 и p14ARF, които са жизненоважни регулатори на клетъчния цикъл и апоптозата. Тези генетични промени превръщат LN229 в ценен модел за изучаване на въздействието на тези мутации върху туморната биология и терапевтичната резистентност.

Клетките LN229 са особено полезни за изследване на апоптозата. Те се подлагат на апоптоза при стимулиране с Fas лиганд, като клетъчната смърт настъпва в рамките на 16 часа. Интересно е, че докато експресията на Bcl-2 може да защити LN229 клетките от Fas лиганд-индуцирана апоптоза, тя предлага само ограничена защита срещу апоптоза, индуцирана от пуромицин, инхибитор на протеиновия синтез. Този модел на селективна резистентност прави LN229 клетките критичен модел за разбиране на молекулярните механизми на апоптозата при глиобластома и за тестване на потенциални терапии, модулиращи апоптозата. Както всички модели за *in vitro* изследвания, клетките LN229 не са подходящи за терапевтични или *in vivo* приложения.

Organism Човек

Tissue Мозък, дясна фронтална теменно-тилна кора

Disease Глиобластом

Synonyms LN 229, LN229, LNT-229

Характеристики

Age 60 години

Gender Жена

Ethnicity Европейски

Клетки LN229 | 305043

Morphology Епителиален

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation LN229 (каталожен номер 305043 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0393

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 31 часа

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Клетки LN229 | 305043

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Клетки LN229 | 305043

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.