

LN229 rakud | 305043

Üldine teave

Description

LN229 on inimese glioblastoomi rakuliin, mis on saadud 60-aastase valge naissoost patsiendi glioblastoomi multiforme'i (GBM), täpsemalt pariето-otsakpitaalse eesmise koore paremast osast. Glioblastoom on üks kõige agressiivsemaid ja surmavamaid ajuvähi vorme ning LN229 rakke kasutatakse laialdaselt teadusuuringutes, et mõista haiguse molekulaarseid aluseid ja töötada välja võimalikke ravistrateegiaid. Rakkudel on epiteelilaadne morfoloogia ja adhesiivsed kasvuomadused, mis muudab nad ideaalseks in vitro uuringuteks. Võttes arvesse nende suurt kasvajate tekkepotsentiaali, moodustavad nad alasti hiirtele süstimisel kergesti kasvajaid, mis teeb neist tugeva mudeli vähiuuringuteks.

Üks LN229 rakkude kriitilisi omadusi on mutatsiooniga p53 geeni (TP53) olemasolu, mille 98. koodonis on spetsiifiline CCT (Pro) - CTT (Leu) mutatsioon. See mutatsioon aitab oluliselt kaasa rakuliini agressiivsele käitumisele ja resistentsusele apoptoosi suhtes. Lisaks on LN229 rakkudel metsikut tüüpi PTEN geen, kuid neil on homosügootne deleetsioon p16 ja p14ARF kasvajasupressorgeenides, mis on olulised rakutsükli ja apoptoosi reguleerijad. Need geneetilised muutused muudavad LN229 väärtuslikuks mudeliks, et uurida nende mutatsioonide mõju kasvaja bioloogiale ja terapeutilisele resistentsusele.

LN229 rakud on eriti kasulikud apoptoosi uuringutes. Fas-ligandiga stimuleerimisel toimub neis apoptoos, kusjuures rakusurm leiab aset 16 tunni jooksul. Huvitav on, et kuigi Bcl-2 ekspressioon võib kaitsta LN229 rakke Fas-ligandi poolt indutseeritud apoptoosi eest, pakub see ainult piiratud kaitset valgu sünteesi inhibiitori puromütsiini poolt indutseeritud apoptoosi eest. Selline selektiivne resistentsus muudab LN229 rakud kriitiliseks mudeliks, et mõista apoptoosi molekulaarmehhanisme glioblastoomi puhul ja katsetada võimalikke apoptoosi moduleerivaid ravimeetodeid. Nagu kõik in vitro uurimismudelid, ei sobi ka LN229 rakud terapeutilisteks või in vivo rakendusteks.

Organism Inimene

Tissue Aju, parem eesmine pariето-oktsipitaalne ajukoor

Disease Glioblastoom

Synonyms LN 229, LN229, LNT-229

Omadused

Age 60 aastat

Gender Naised

Ethnicity Euroopa

Morphology Epiteel

LN229 rakud | 305043

Growth properties	Kinnipeetav
--------------------------	-------------

Regulatiivsed andmed

Citation	LN229 (Cytioni katalooginumber 305043)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_0393
-----------------------------	-----------

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
-----------------------	---

Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
--------------------	-----------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Doubling time	31 tundi
----------------------	----------

Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
---------------------	--

Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
----------------------	------------------------

Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.
----------------------	--

LN229 rakud | 305043

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

LN229 rakud | 305043

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.