

Bunky LN229 | 305043**Všeobecné informácie****Description**

LN229 je ľudská glioblastómová bunková línia odvodená od 60-ročnej bielej pacientky s multiformným glioblastómom (GBM), konkrétne z pravej frontálnej parieto-okcipitálnej kôry. Glioblastóm je jednou z najagresívnejších a najsmrteľnejších foriem rakoviny mozgu a bunky LN229 sa vo veľkej miere používajú vo výskume na pochopenie molekulárnych základov tohto ochorenia a na vývoj potenciálnych terapeutických stratégií. Bunky majú morfológiu podobnú epitelu a vykazujú adherentné rastové vlastnosti, čo ich robí ideálnymi na štúdie in vitro. Vzhľadom na ich vysoký tumorigénny potenciál ľahko vytvárajú nádory, keď sú injikované do nahých myši, čo z nich robí robustný model pre výskum rakoviny.

Jednou z kritických vlastností buniek LN229 je prítomnosť mutovaného génu p53 (TP53) so špecifickou mutáciou CCT (Pro) na CTT (Leu) v kodóne 98. Táto mutácia významne prispieva k agresívnemu správaniu bunkovej línie a jej odolnosti voči apoptóze. Okrem toho majú bunky LN229 gén PTEN divokého typu, ale vykazujú homozygotné delécie v nádorových supresorových génoch p16 a p14ARF, ktoré sú dôležitými regulátormi bunkového cyklu a apoptózy. Tieto genetické zmeny robia z LN229 cenný model na štúdium vplyvu týchto mutácií na biológiu nádorov a rezistenciu na liečbu.

Bunky LN229 sú obzvlášť užitočné pri štúdiu apoptózy. Po stimulácii ligandom Fas podliehajú apoptóze, pričom k bunkovej smrti dochádza do 16 hodín. Je zaujímavé, že zatiaľ čo expresia Bcl-2 dokáže ochrániť bunky LN229 pred apoptózou vyvolanou ligandom Fas, poskytuje len obmedzenú ochranu pred apoptózou vyvolanou puromycínom, inhibítorom syntézy proteínov. Vďaka tejto selektívnej rezistencii sú bunky LN229 kritickým modelom na pochopenie molekulárnych mechanizmov apoptózy v glioblastóme a na testovanie potenciálnych terapií modulujúcich apoptózu. Tak ako všetky výskumné modely in vitro, ani bunky LN229 nie sú vhodné na terapeutické alebo in vivo aplikácie.

Organism Ľudské**Tissue** Mozog, pravá predná parieto-okcipitálna kôra**Disease** Glioblastóm**Synonyms** LN 229, LN229, LNT-229**Charakteristika****Age** 60 rokov**Gender** Ženy**Ethnicity** Európska**Morphology** Epitelové

Bunky LN229 | 305043

Growth properties Adherent

Regulačné údaje

Citation LN229 (katalógové číslo Cytion 305043)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0393

Biomolekulárne údaje**Spracovanie**

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Supplements Doplníte médium o 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 31 hodín

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Fluid renewal 2 až 3-krát týždenne

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 LN229 | 305043**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 °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 °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 x 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 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

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

**Shipping
Conditions**

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

Bunky LN229 | 305043

**Storage
Conditions**

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

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.