

Κύτταρα LN229 | 305043

Γενικές πληροφορίες

Description

Η LN229 είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά γλοιοβλαστώματος που προέρχεται από μια 60χρονη λευκή γυναίκα ασθενή με πολύμορφο γλοιοβλάστωμα (GBM), συγκεκριμένα από τον δεξιό μετωπιαίο βρεγματικό-ινιακό φλοιό. Το γλοιοβλάστωμα είναι μία από τις πιο επιθετικές και θανατηφόρες μορφές καρκίνου του εγκεφάλου και τα κύτταρα LN229 χρησιμοποιούνται εκτενώς στην έρευνα για την κατανόηση των μοριακών υποβάθρων της νόσου και την ανάπτυξη πιθανών θεραπευτικών στρατηγικών. Τα κύτταρα εμφανίζουν μορφολογία που μοιάζει με επιθήλιο και παρουσιάζουν ιδιότητες προσκολλητικής ανάπτυξης, γεγονός που τα καθιστά ιδανικά για *in vitro* μελέτες. Δεδομένου του υψηλού καρκινικού δυναμικού τους, σχηματίζουν εύκολα όγκους όταν εγχέονται σε γυμνά ποντίκια, καθιστώντας τα ένα ισχυρό μοντέλο για την έρευνα του καρκίνου.

Ένα από τα κρίσιμα χαρακτηριστικά των κυττάρων LN229 είναι η παρουσία ενός μεταλλαγμένου γονιδίου p53 (TP53), με ειδική μετάλλαξη CCT (Pro) σε CTT (Leu) στο κωδικόνιο 98. Η μετάλλαξη αυτή συμβάλλει σημαντικά στην επιθετική συμπεριφορά και την αντίσταση της κυτταρικής σειράς στην απόπτωση. Επιπλέον, τα κύτταρα LN229 έχουν γονίδιο PTEN άγριου τύπου, αλλά παρουσιάζουν ομόζυγες διαγραφές στα ογκοκατασταλτικά γονίδια p16 και p14ARF, τα οποία είναι ζωτικής σημασίας ρυθμιστές του κυτταρικού κύκλου και της απόπτωσης. Αυτές οι γενετικές μεταβολές καθιστούν το LN229 ένα πολύτιμο μοντέλο για τη μελέτη των επιπτώσεων αυτών των μεταλλάξεων στη βιολογία του όγκου και τη θεραπευτική αντοχή.

Τα κύτταρα LN229 είναι ιδιαίτερα χρήσιμα σε μελέτες απόπτωσης. Υποβάλλονται σε απόπτωση μετά από διέγερση με ligand Fas, με τον κυτταρικό θάνατο να επέρχεται εντός 16 ωρών. Είναι ενδιαφέρον ότι, ενώ η έκφραση του Bcl-2 μπορεί να προστατεύσει τα κύτταρα LN229 από την απόπτωση που προκαλείται από τον ligand Fas, προσφέρει μόνο περιορισμένη προστασία από την απόπτωση που προκαλείται από την πουρομυκίνη, έναν αναστολέα της πρωτεϊνσύνθεσης. Αυτό το επιλεκτικό πρότυπο αντοχής καθιστά τα κύτταρα LN229 ένα κρίσιμο μοντέλο για την κατανόηση των μοριακών μηχανισμών απόπτωσης στο γλοιοβλάστωμα και για τη δοκιμή πιθανών θεραπειών που ρυθμίζουν την απόπτωση. Όπως συμβαίνει με όλα τα *in vitro* ερευνητικά μοντέλα, τα κύτταρα LN229 δεν είναι κατάλληλα για θεραπευτικές ή *in vivo* εφαρμογές.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Εγκέφαλος, δεξιός μετωπιαίος βρεγματοϊνιακός φλοιός

Disease

Γλοιοβλάστωμα

Synonyms

LN 229, LN229, LNT-229

Χαρακτηριστικά

Age

60 χρόνια

Gender

Γυναίκα

Ethnicity

Ευρωπαϊκό

Κύτταρα LN229 | 305043

Morphology Επιθηλιακό

Growth properties Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation LN229 (αριθμός καταλόγου Cytion 305043)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0393

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM πυρροβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 31 ώρες

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Fluid renewal 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Κύτταρα LN229 | 305043**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Κύτταρα LN229 | 305043

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.