

LN229 sejtek | 305043

Általános információk

Description

Az LN229 egy humán glioblasztóma sejtvonala, amely egy 60 éves fehér nőbeteg glioblastoma multiforme (GBM) betegből származik, kifejezetten a jobb frontális parieto-occipitális kéregből. A glioblasztóma az agydaganat egyik legagresszívabb és leghalálosabb formája, és az LN229 sejteket széles körben használják a kutatásban a betegség molekuláris alapjainak megértésére és a lehetséges terápiás stratégiák kifejlesztésére. A sejtek epithelszerű morfológiát mutatnak és tapadó növekedési tulajdonságokkal rendelkeznek, ami ideális in vitro vizsgálatokhoz. Nagy tumorigén potenciáljuk miatt könnyen képeznek daganatokat, amikor meztelen egerekbe injektálják őket, ami a rákkutatás robusztus modelljévé teszi őket.

Az LN229 sejtek egyik kritikus jellemzője a mutáns p53 gén (TP53) jelenléte, amely a 98-as kodonnál egy specifikus CCT (Pro) CTT (Leu) mutációval rendelkezik. Ez a mutáció jelentősen hozzájárul a sejtvonala agresszív viselkedéséhez és az apoptózissal szembeni rezisztenciájához. Ezenkívül az LN229 sejtek vad típusú PTEN génnel rendelkeznek, de homozigóta deléciókat mutatnak a p16 és p14ARF tumorszuppresszor génekben, amelyek a sejtciklus és az apoptózis létfontosságú szabályozói. Ezek a genetikai változások az LN229-et értékes modellé teszik a mutációk tumorbiológiára és terápiás rezisztenciára gyakorolt hatásának tanulmányozására.

Az LN229 sejtek különösen hasznosak az apoptózis vizsgálatában. Fas liganddal történő stimuláció hatására apoptózisba kerülnek, és a sejthalál 16 órán belül bekövetkezik. Érdekes módon, míg a Bcl-2 expresszió képes megvédeni az LN229 sejteket a Fas ligandum által kiváltott apoptózistól, addig a fehérjeszintézist gátló puromycin által kiváltott apoptózissal szemben csak korlátozott védelmet nyújt. Ez a szelektív rezisztenciaminta teszi az LN229 sejteket kritikus modellé a glioblasztóma apoptózisának molekuláris mechanizmusainak megértéséhez és a potenciális apoptózismoduláló terápiák teszteléséhez. Mint minden in vitro kutatási modell, az LN229 sejtek sem alkalmasak terápiás vagy in vivo alkalmazásra.

Organism

Emberi

Tissue

Agy, jobb oldali frontális parieto-okcipitális kéreg

Disease

Glioblastoma

Synonyms

LN 229, LN229, LNT-229

Jellemzők

Age

60 év

Gender

Női

Ethnicity

Európai

Morphology

Epithelialis

LN229 sejtek | 305043

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Citation

LN229 (Cytion katalógusszám: 305043)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_0393

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium

DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)

Supplements

A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent

Accutase

Doubling time

31 óra

Subculturing

Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Fluid renewal

hetente 2-3 alkalommal

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

LN229 sejtek | 305043

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

LN229 sejtek | 305043

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196°C közötti hőmérsékleten. A -80°C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.