

LN229 ląstelės | 305043

Bendra informacija

Description

LN229 yra žmogaus glioblastomos ląstelių linija, gauta iš 60 metų baltaodės pacientės, sergančios daugiaforme glioblastoma (GBM), ypač iš dešinėsios priekinės parietinės ir pakaušio žievės. Glioblastoma yra viena agresyviausių ir mirtiniausių smegenų vėžio formų, todėl LN229 ląstelės plačiai naudojamos moksliniams tyrimams, siekiant suprasti ligos molekulinį pagrindą ir kurti galimas gydymo strategijas. Ląstelės pasižymi epitelio morfologija ir adherentinio augimo savybėmis, todėl idealiai tinka in vitro tyrimams. Atsižvelgiant į jų didelį navikinį potencialą, įšvirkštos į nuogas peles jos lengvai suformuoja navikus, todėl yra tinkamas vėžio tyrimų modelis.

Viena iš svarbiausių LN229 ląstelių savybių yra mutavęs p53 genas (TP53) su specifine CCT (Pro) - CTT (Leu) mutacija 98 kodone. Ši mutacija labai prisideda prie šios ląstelių linijos agresyvaus elgesio ir atsparumo apoptozei. Be to, LN229 ląstelės turi laukinio tipo PTEN geną, tačiau jose yra homozigotinės vėžio slopintojų genų p16 ir p14ARF, kurie yra labai svarbūs ląstelių ciklo ir apoptozės reguliatoriai, delecijos. Dėl šių genetinių pakitimų LN229 yra vertingas modelis tiriant šių mutacijų poveikį naviko biologijai ir atsparumui gydymui.

LN229 ląstelės ypač naudingos apoptozės tyrimams. Jos apoptozuoja po stimuliavimo Fas ligandu, o ląstelės žūsta per 16 valandų. Įdomu tai, kad nors Bcl-2 raiška gali apsaugoti LN229 ląsteles nuo Fas ligando sukeltos apoptozės, ji tik ribotai apsaugo nuo baltymų sintezės inhibitoriaus puromicino sukeltos apoptozės. Dėl šio selektyvaus atsparumo modelio LN229 ląstelės yra labai svarbus modelis glioblastomos apoptozės molekuliniam mechanizmui suprasti ir galimiems apoptozę modifikuojantiems gydymo būdams išbandyti. Kaip ir visi in vitro tyrimų modeliai, LN229 ląstelės nėra tinkamos terapiniams ar in vivo taikymams.

Organism

Žmogus

Tissue

Smegenys, dešinioji priekinė parietinė-okcipitalinė žievė

Disease

Glioblastoma

Synonyms

LN 229, LN229, LNT-229

Charakteristikos

Age

60 metų

Gender

Moteris

Ethnicity

Europos

Morphology

Epitelis

Growth properties

Priglundęs

LN229 ląstelės | 305043

Reguliavimo duomenys

Citation	LN229 (Cytion katalogo numeris 305043)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0393

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO ₃ , š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	31 val
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

LN229 ląstelės | 305043

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

**Freezing
Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

LN229 ląstelės | 305043

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.