

LN229 šūnas | 305043

Vispārīga informācija

Description

LN229 ir cilvēka glioblastomas šūnu līnija, kas iegūta no 60 gadus vecas baltādainas pacientes ar multiformu glioblastomu (GBM), īpaši no labās frontālās parieto-occipitālajā daļā esošās galvas smadzeņu garozas. Glioblastoma ir viena no agresīvākajām un letālākajām smadzeņu vēža formām, un LN229 šūnas tiek plaši izmantotas pētījumos, lai izprastu slimības molekulāro būtību un izstrādātu iespējamās terapeitiskās stratēģijas. Šīm šūnām ir epitēlijam līdzīga morfoloģija, un tām piemīt adherentas augšanas īpašības, kas padara tās ideāli piemērotas in vitro pētījumiem. Ņemot vērā to augsto audzēja potenciālu, tās viegli veido audzējus, injicējot nude pelēm, kas padara tās par stabilu vēža pētījumu modeli.

Viena no būtiskākajām LN229 šūnu īpašībām ir mutēta p53 gēna (TP53) klātbūtne ar specifisku CCT (Pro) mutāciju uz CTT (Leu) 98. kodonā. Šī mutācija būtiski veicina šūnu līnijas agresīvu uzvedību un rezistenci pret apoptozi. Turklāt LN229 šūnām ir savvaļas tipa PTEN gēns, bet tām ir homozigotiskas p16 un p14ARF audzēju nomācošo gēnu, kas ir būtiski šūnu cikla un apoptozes regulatori, delecijas. Šīs ģenētiskās izmaiņas padara LN229 par vērtīgu modeli, lai pētītu šo mutāciju ietekmi uz audzēja bioloģiju un rezistenci pret terapiju.

LN229 šūnas ir īpaši noderīgas apoptozes pētījumos. Tās apoptozējas pēc stimulēšanas ar Fas ligandu, un šūnu nāve iestājas 16 stundu laikā. Interesanti, ka, lai gan Bcl-2 ekspresija var aizsargāt LN229 šūnas no Fas liganda izraisītas apoptozes, tā nodrošina tikai ierobežotu aizsardzību pret olbaltumvielu sintēzes inhibitora puromicīna izraisītu apoptozi. Šis selektīvās rezistences modelis padara LN229 šūnas par ļoti svarīgu modeli, lai izprastu glioblastomas apoptozes molekulāros mehānismus un pārbaudītu potenciālās apoptozi modulējošās terapijas. Tāpat kā visi in vitro pētījumu modeļi, arī LN229 šūnas nav piemērotas terapeitiskiem vai in vivo lietojumiem.

Organism

Cilvēks

Tissue

Smadzenes, labā frontālā parieto-occipitālajā garozā

Disease

Glioblastoma

Synonyms

LN 229, LN229, LNT-229

Raksturojums

Age

60 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Eiropas

Morphology

Epitēlija

Growth properties

Adherent

LN229 šūnas | 305043

Normatīvie dati

Citation	LN229 (Cytion kataloga numurs 305043)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0393

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	31 stunda
Subculturing	Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiēt šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

LN229 šūnas | 305043

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

LN229 šūnas | 305043

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.