

Komórki LN229 | 305043

Informacje ogólne

Description

LN229 to ludzka linia komórek glejaka pochodząca od 60-letniej białej pacjentki z glejakiem wielopostaciowym (GBM), w szczególności z prawej przedniej kory ciemieniowo-potylicznej. Glejak wielopostaciowy jest jedną z najbardziej agresywnych i śmiertelnych form raka mózgu, a komórki LN229 są szeroko wykorzystywane w badaniach w celu zrozumienia molekularnych podstaw choroby i opracowania potencjalnych strategii terapeutycznych. Komórki wykazują morfologię podobną do nabłonka i wykazują właściwości adherentnego wzrostu, co czyni je idealnymi do badań in vitro. Biorąc pod uwagę ich wysoki potencjał nowotworowy, łatwo tworzą guzy po wstrzyknięciu nagim myszom, co czyni je solidnym modelem do badań nad rakiem.

Jedną z krytycznych cech komórek LN229 jest obecność zmutowanego genu p53 (TP53), ze specyficzną mutacją CCT (Pro) do CTT (Leu) w kodonie 98. Mutacja ta znacząco przyczynia się do agresywnego zachowania linii komórkowej i oporności na apoptozę. Dodatkowo, komórki LN229 mają gen PTEN typu dzikiego, ale wykazują homozygotyczne delecje w genach supresorowych nowotworów p16 i p14ARF, które są istotnymi regulatorami cyklu komórkowego i apoptozy. Te zmiany genetyczne sprawiają, że LN229 jest cennym modelem do badania wpływu tych mutacji na biologię nowotworu i oporność terapeutyczną.

Komórki LN229 są szczególnie przydatne w badaniach nad apoptozą. Ulegają one apoptozie po stymulacji ligandem Fas, a śmierć komórki następuje w ciągu 16 godzin. Co ciekawe, podczas gdy ekspresja Bcl-2 może chronić komórki LN229 przed apoptozą indukowaną ligandem Fas, zapewnia ona jedynie ograniczoną ochronę przed apoptozą indukowaną przez puromycynę, inhibitor syntezy białek. Ten selektywny wzór oporności sprawia, że komórki LN229 są krytycznym modelem do zrozumienia molekularnych mechanizmów apoptozy w glejaku i do testowania potencjalnych terapii modulujących apoptozę. Podobnie jak w przypadku wszystkich modeli badawczych in vitro, komórki LN229 nie nadają się do zastosowań terapeutycznych lub in vivo.

Organism Człowiek**Tissue** Mózg, prawa kora czołowo-ciemieniowo-potyliczna**Disease** Glejak wielopostaciowy**Synonyms** LN 229, LN229, LNT-229

Charakterystyka

Age 60 lat**Gender** Kobieta**Ethnicity** Europejski**Morphology** Nabłonek

Komórki LN229 | 305043

Growth properties	Adherent
--------------------------	----------

Dane regulacyjne

Citation	LN229 (numer katalogowy Cytion 305043)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_0393
-----------------------------	-----------

Dane biomolekularne

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
--------------------	---------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Doubling time	31 godzin
----------------------	-----------

Subculturing	Usun starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
---------------------	---

Split ratio	1:2 do 1:5
--------------------	------------

Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
----------------------	------------------------

Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.
----------------------	---

Komórki LN229 | 305043

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki LN229 | 305043

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.