

Celice LN229 | 305043

Splošne informacije

Description

LN229 je celična linija človeškega glioblastoma, pridobljena od 60-letne bele bolnice z multififormnim glioblastomom (GBM), zlasti iz desne frontalne parieto-okcipitalne skorje. Glioblastom je ena najbolj agresivnih in smrtonosnih oblik možganskega raka, celice LN229 pa se pogosto uporabljajo v raziskavah za razumevanje molekularnih osnov bolezni in razvoj potencialnih terapevtskih strategij. Celice imajo morfologijo, podobno epitelijski, in adherentne rastne lastnosti, zaradi česar so idealne za študije in vitro. Zaradi visokega tumorigenega potenciala zlahka tvorijo tumorje, ko jih vbrizgamo golim mišim, zato so zanesljiv model za raziskave raka.

Ena od ključnih značilnosti celic LN229 je prisotnost mutiranega gena p53 (TP53) s specifično mutacijo CCT (Pro) v CTT (Leu) na kodonu 98. Ta mutacija pomembno prispeva k agresivnemu obnašanju celične linije in odpornosti na apoptozo. Poleg tega imajo celice LN229 gen PTEN divjega tipa, vendar imajo homozigotne delecije tumorskih supresorskih genov p16 in p14ARF, ki sta ključna regulatorja celičnega cikla in apoptoze. Zaradi teh genetskih sprememb je LN229 dragocen model za preučevanje vpliva teh mutacij na biologijo tumorjev in odpornost na zdravljenje.

Celice LN229 so še posebej uporabne pri študijah apoptoze. Po stimulaciji z ligandom Fas v njih pride do apoptoze, pri čemer celice umrejo v 16 urah. Zanimivo je, da lahko izražanje Bcl-2 celice LN229 zaščiti pred apoptozo, povzročeno z ligandom Fas, medtem ko nudi le omejeno zaščito pred apoptozo, povzročeno s puomicinom, zaviralcem sinteze beljakovin. Zaradi te selektivne odpornosti so celice LN229 pomemben model za razumevanje molekularnih mehanizmov apoptoze pri glioblastomu in za testiranje potencialnih terapij, ki modulirajo apoptozo. Kot vsi raziskovalni modeli in vitro tudi celice LN229 niso primerne za terapevtsko uporabo ali uporabo in vivo.

Organism Človek**Tissue** Možgani, desna čelna parieto-okcipitalna skorja**Disease** Glioblastom**Synonyms** LN 229, LN229, LNT-229

Značilnosti

Age 60 let**Gender** Ženske**Ethnicity** Evropski**Morphology** Epitelijski

Celice LN229 | 305043

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation

LN229 (kataloška številka Cytion 305043)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_0393

Biomolekularni podatki

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium

DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)

Supplements

Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Doubling time

31 ur

Subculturing

Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Fluid renewal

2 do 3-krat na teden

Freeze medium

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Celice LN229 | 305043

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrditev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice LN229 | 305043

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.