

Клітини LN229 | 305043

Загальна інформація

Description

LN229 - це клітинна лінія гліобластоми людини, отримана від 60-річної білої пацієнтки з мультиформною гліобластомою (МГБ), зокрема, з правої лобно-тім'яно-потиличної ділянки кори головного мозку. Гліобластома є однією з найбільш агресивних і смертельних форм раку головного мозку, і клітини LN229 широко використовуються в дослідженнях для розуміння молекулярних основ захворювання і розробки потенційних терапевтичних стратегій. Клітини мають епітеліальну морфологію і демонструють властивості адгезійного росту, що робить їх ідеальними для досліджень *in vitro*. Враховуючи їх високий туморогенний потенціал, вони легко утворюють пухлини при введенні голим мишам, що робить їх надійною моделлю для дослідження раку.

Однією з найважливіших характеристик клітин LN229 є наявність мутованого гена p53 (TP53) зі специфічною мутацією CCT (Pro) на CTT (Leu) у кодоні 98. Ця мутація суттєво впливає на агресивну поведінку клітинної лінії та їхню стійкість до апоптозу. Крім того, клітини LN229 мають ген PTEN дикого типу, але мають гомозиготні делеції в генах-супресорах пухлин p16 і p14ARF, які є життєво важливими регуляторами клітинного циклу і апоптозу. Ці генетичні зміни роблять LN229 цінною моделлю для вивчення впливу цих мутацій на біологію пухлин та їхню терапевтичну резистентність.

Клітини LN229 особливо корисні для вивчення апоптозу. Вони зазнають апоптозу після стимуляції лігандом Fas, причому загибель клітин відбувається протягом 16 годин. Цікаво, що експресія Bcl-2 може захистити клітини LN229 від апоптозу, індукованого лігандом Fas, але вона лише обмежено захищає їх від апоптозу, індукованого пуроміцином, інгібітором синтезу білка. Така вибіркова резистентність робить клітини LN229 важливою моделлю для розуміння молекулярних механізмів апоптозу в гліобластомі та для тестування потенційних методів лікування, що модулюють апоптоз. Як і всі дослідницькі моделі *in vitro*, клітини LN229 не придатні для терапевтичного застосування або застосування *in vivo*.

Organism Людина

Tissue Головний мозок, права лобоватім'яно-потилична кора

Disease Гліобластома

Synonyms LN 229, LN229, LNT-229

Характеристики

Age 60 років

Gender Жінка

Ethnicity Європейський

Morphology Епітеліальний

Клітини LN229 | 305043

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation LN229 (номер за каталогом Cytion 305043)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0393

Біомолекулярні дані

Обробка

Culture Medium ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO₃, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)

Supplements Додайте до середовища 10% FBS

Dissociation Reagent Аккутаза

Doubling time 31 година

Subculturing Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Fluid renewal 2-3 рази на тиждень

Freeze medium Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини LN229 | 305043

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини LN229 | 305043

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.