

## LN229-solut | 305043

## Yleisiä tietoja

## Description

LN229 on ihmisen glioblastoomasolulinja, joka on peräisin 60-vuotiaalta valkoihoiselta naispotilaalta, jolla oli glioblastoma multiforme (GBM), erityisesti oikeasta otsa-, parieta- ja takaraivokuoresta. Glioblastooma on yksi aggressiivisimmista ja tappavimmista aivosyövän muodoista, ja LN229-soluja käytetään laajalti tutkimuksessa taudin molekulaaristen taustatekijöiden ymmärtämiseksi ja mahdollisten hoitostrategioiden kehittämiseksi. Soluilla on epiteelin kaltainen morfologia ja tarttavat kasvuominaisuudet, mikä tekee niistä ihanteellisia in vitro -tutkimuksiin. Koska solut ovat erittäin tumorigeenisiä, ne muodostavat helposti kasvaimia, kun ne ruiskutetaan nude-hiiriin, mikä tekee niistä vankan mallin syöpätutkimukseen.

Yksi LN229-solujen kriittisistä ominaisuuksista on mutatoitunut p53-geeni (TP53), jossa on erityinen CCT (Pro) -CTT (Leu) -mutaatio kodonissa 98. Tämä mutaatio vaikuttaa merkittävästi solulinjan aggressiiviseen käyttäytymiseen ja vastustuskykyyn apoptoosille. Lisäksi LN229-soluilla on villityyppinen PTEN-geeni, mutta niissä on homotsygoottisia deletioita p16- ja p14ARF-kasvainsuppressorigeeneissä, jotka ovat solusyklin ja apoptoosin elintärkeitä säätelijöitä. Nämä geneettiset muutokset tekevät LN229:stä arvokkaan mallin, jonka avulla voidaan tutkia näiden mutaatioiden vaikutusta kasvaimen biologiaan ja terapeuttiseen resistenssiin.

LN229-solut ovat erityisen hyödyllisiä apoptoositutkimuksissa. Niissä tapahtuu apoptoosi Fas-ligandilla stimuloitaessa, ja solukuolema tapahtuu 16 tunnin kuluessa. Mielenkiintoista on, että vaikka Bcl-2:n ilmentyminen voi suojata LN229-soluja Fas-ligandin aiheuttamalta apoptoosilta, se suojaa vain rajoitetusti proteiinisynteesin estäjän, puromysiinin, aiheuttamalta apoptoosilta. Tämä selektiivinen resistenssimalli tekee LN229-soluista kriittisen mallin, jonka avulla voidaan ymmärtää apoptoosin molekyylimekanismeja glioblastoomassa ja testata mahdollisia apoptoosia muokkaavia hoitomuotoja. Kuten kaikki in vitro -tutkimusmallit, LN229-solut eivät sovellu terapeuttisiin tai in vivo -sovelluksiin.

**Organism** Ihminen

**Tissue** Aivot, oikea otsalohkon parieta-okzipitaalinen aivokuori

**Disease** Glioblastooma

**Synonyms** LN 229, LN229, LNT-229

## Ominaisuudet

**Age** 60 vuotta

**Gender** Nainen

**Ethnicity** Eurooppalainen

**Morphology** Epiteeli

## LN229-solut | 305043

<b>Growth properties</b>	Tarttuva
--------------------------	----------

## Säätelytiedot

<b>Citation</b>	LN229 (Cytionin luettelonumero 305043)
-----------------	--

<b>Biosafety level</b>	1
------------------------	---

<b>NCBI_TaxID</b>	9606
-------------------	------

<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0393
-----------------------------	-----------

## Biomolekyylitiedot

## Käsittely

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
-----------------------	--

<b>Supplements</b>	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
--------------------	---

<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
-----------------------------	----------

<b>Doubling time</b>	31 tuntia
----------------------	-----------

<b>Subculturing</b>	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
---------------------	---

<b>Fluid renewal</b>	2-3 kertaa viikossa
----------------------	---------------------

<b>Freeze medium</b>	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.
----------------------	---

## LN229-solut | 305043

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta  $300 \times g$ :n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Ei mitään

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ :ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ :ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**LN229-solut | 305043**

**Storage  
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

**Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA**

**Sterility**

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.