

## 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 puomicīna 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.

<b>Organism</b>	Cilvēks
<b>Tissue</b>	Smadzenes, labā frontālā parieto-occipitālajā garozā
<b>Disease</b>	Glioblastoma
<b>Synonyms</b>	LN 229, LN229, LNT-229

## Raksturojums

<b>Age</b>	60 gadi
<b>Gender</b>	Sievietes
<b>Ethnicity</b>	Eiropas
<b>Morphology</b>	Epitēlija
<b>Growth properties</b>	Adherent

## LN229 šūnas | 305043

## Normatīvie dati

<b>Citation</b>	LN229 (Cytion kataloga numurs 305043)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0393

## Biomolekulārie dati

## Darbs ar

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
<b>Supplements</b>	Papildināt barotni ar 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	31 stunda
<b>Subculturing</b>	Noņemt 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 pārklājiet 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.
<b>Fluid renewal</b>	2 līdz 3 reizes nedēļā
<b>Freeze medium</b>	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%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

**Flask Coating**

Neviens

**Freezing  
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums 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 šķidrums 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.