

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-, parieto- 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 tarttuvat 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-kasvainsuppressorigeneisissä, 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 terapeutiseen 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 terapeutisiin tai in vivo -sovelluksiin.

Organism Ihminen

Tissue Aivot, oikea otsalohkon parieto-okzipitaalinen aivokuori

Disease Glioblastooma

Synonyms LN 229, LN229, LNT-229

Ominaisuudet

Age 60 vuotta

Gender Nainen

Ethnicity Eurooppalainen

Morphology Epiteeli

LN229-solut | 305043

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation

LN229 (Cytionin luettelonumero 305043)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_0393

Biomolekyylitiedot

Käsittely

Culture Medium

DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

Supplements

Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissociation Reagent

Accutase

Doubling time

31 tuntia

Subculturing

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 väliainetta.

Fluid renewal

2-3 kertaa viikossa

Freeze medium

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 kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella 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 x 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 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

LN229-solut | 305043

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

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.