

LN229 Cellen | 305043

Algemene informatie

Description

LN229 is een menselijke glioblastoomcellijn afkomstig van een 60-jarige blanke vrouwelijke patiënt met glioblastoma multiforme (GBM), specifiek van de rechter frontale pariëto-occipitale cortex. Glioblastoom is een van de meest agressieve en dodelijke vormen van hersenkanker en LN229 cellen worden uitgebreid gebruikt in onderzoek om de moleculaire onderbouwing van de ziekte te begrijpen en om potentiële therapeutische strategieën te ontwikkelen. De cellen hebben een epitheliale morfologie en vertonen aanhechtende groei-eigenschappen, waardoor ze ideaal zijn voor in vitro onderzoek. Gezien hun hoge tumorigene potentieel vormen ze gemakkelijk tumoren wanneer ze geïnjecteerd worden in naakte muizen, waardoor ze een robuust model vormen voor kankeronderzoek.

Een van de kritieke kenmerken van LN229-cellen is de aanwezigheid van een gemuteerd p53-gen (TP53), met een specifieke CCT (Pro) naar CTT (Leu) mutatie bij codon 98. Deze mutatie draagt aanzienlijk bij aan de celsterfte. Deze mutatie draagt aanzienlijk bij aan het agressieve gedrag van de cellijn en de resistentie tegen apoptose. Daarnaast hebben LN229-cellen een wild-type PTEN-gen, maar vertonen ze homozygote deleties in de tumorsuppressorgenen p16 en p14ARF, die vitale regulatoren zijn van de celcyclus en apoptose. Deze genetische veranderingen maken LN229 tot een waardevol model voor het bestuderen van de invloed van deze mutaties op tumorbiologie en therapeutische resistentie.

LN229 cellen zijn vooral nuttig bij apoptosestudies. Ze ondergaan apoptose na stimulatie met Fas-ligand, waarbij de celdood binnen 16 uur optreedt. Interessant is dat, terwijl Bcl-2 expressie LN229 cellen kan beschermen tegen Fas ligand-geïnduceerde apoptose, het slechts beperkte bescherming biedt tegen apoptose geïnduceerd door puromycine, een remmer van de eiwitsynthese. Dit selectieve resistentiepatroon maakt LN229 cellen tot een cruciaal model voor het begrijpen van de moleculaire mechanismen van apoptose in glioblastoma en voor het testen van potentiële apoptosemodulerende therapieën. Zoals alle in vitro onderzoeksmodellen zijn LN229 cellen niet geschikt voor therapeutische of in vivo toepassingen.

Organism Mens

Tissue Hersenen, rechter frontale pariëto-occipitale cortex

Disease Glioblastoom

Synonyms LN 229, LN229, LNT-229

Kenmerken

Age 60 jaar

Gender Vrouw

Ethnicity Europese

Morphology Epitheel

LN229 Cellen | 305043

Growth properties	Aanhangend
--------------------------	------------

Regelgevende gegevens

Citation	LN229 (Cytion catalogusnummer 305043)
-----------------	---------------------------------------

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_0393
-----------------------------	-----------

Biomoleculaire gegevens

Omgaan met

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)
-----------------------	---

Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
--------------------	--------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Doubling time	31 uur
----------------------	--------

Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
---------------------	---

Split ratio	1:2 tot 1:5
--------------------	-------------

Fluid renewal	2 tot 3 keer per week
----------------------	-----------------------

Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.
----------------------	--

LN229 Cellen | 305043

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

LN229 Cellen | 305043

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.