

LN229-celler | 305043

Generell informasjon

Description

LN229 er en human glioblastomcellelinje som stammer fra en 60 år gammel hvit kvinnelig pasient med glioblastoma multiforme (GBM), spesifikt fra høyre frontale parieto-occipitale cortex. Glioblastom er en av de mest aggressive og dødelige formene for hjernekreft, og LN229-celler brukes i stor utstrekning i forskning for å forstå sykdommens molekylære underbygning og for å utvikle potensielle behandlingsstrategier. Cellene har en epitel-lignende morfologi og utviser adherente vekstegenskaper, noe som gjør dem ideelle for in vitro-studier. På grunn av deres høye tumorgeniske potensial danner de lett svulster når de injiseres i nakne mus, noe som gjør dem til en robust modell for kreftforskning.

Et av de kritiske kjennetegnene ved LN229-celler er tilstedeværelsen av et mutert p53-gen (TP53), med en spesifikk CCT (Pro)- til CTT (Leu)-mutasjon ved kodon 98. Denne mutasjonen bidrar vesentlig til cellelinjens aggressive atferd og resistens mot apoptose. I tillegg har LN229-celler et PTEN-gen av villtype, men de har homozygote delesjoner i tumorsuppressorgenene p16 og p14ARF, som er viktige regulatorer av cellesyklus og apoptose. Disse genetiske endringene gjør LN229 til en verdifull modell for å studere effekten av disse mutasjonene på tumorbiologi og behandlingsresistens.

LN229-celler er spesielt nyttige i apoptosestudier. De gjennomgår apoptose ved stimulering med Fas-ligand, og celledøden inntreffer i løpet av 16 timer. Det er interessant å merke seg at mens Bcl-2-uttrykk kan beskytte LN229-celler mot Fas-ligandindusert apoptose, gir det bare begrenset beskyttelse mot apoptose induert av puromycin, en proteinsyntesehemmer. Dette selektive resistensmønsteret gjør LN229-celler til en viktig modell for å forstå de molekylære mekanismene bak apoptose i glioblastom og for å teste ut potensielle apoptosemodulerende behandlingsformer. Som med alle in vitro-forskningsmodeller er LN229-celler ikke egnet for terapeutiske eller in vivo-anvendelser.

Organism Menneskelig

Tissue Hjerne, høyre frontale parieto-occipitale cortex

Disease Glioblastom

Synonyms LN 229, LN229, LNT-229

Kjennetegn

Age 60 år

Gender Kvinne

Ethnicity Europeisk

Morphology Epitelial

LN229-celler | 305043

Growth properties	Vedhengende
--------------------------	-------------

Regulatoriske data

Citation	LN229 (Cytion-katalognummer 305043)
-----------------	-------------------------------------

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

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

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

Biomolekylære data

Håndtering

Culture Medium	DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO ₃ , m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
--------------------	-----------------------------

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

Doubling time	31 timer
----------------------	----------

Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
---------------------	--

Split ratio	1:2 til 1:5
--------------------	-------------

Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke
----------------------	------------------------

Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.
----------------------	---

LN229-celler | 305043

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

**Freezing
Procedure**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Shipping
Conditions**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

LN229-celler | 305043

**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.