

Celule LN229 | 305043

Informații generale

Description

LN229 este o linie celulară umană de glioblastom derivată de la o pacientă albă de 60 de ani cu glioblastom multiform (GBM), în special din cortexul frontal drept parieto-occipital. Glioblastomul este una dintre cele mai agresive și letale forme de cancer cerebral, iar celulele LN229 sunt utilizate pe scară largă în cercetare pentru a înțelege fundamentele moleculare ale bolii și pentru a dezvolta potențiale strategii terapeutice. Celulele prezintă o morfologie asemănătoare celei epiteliale și prezintă proprietăți de creștere aderente, ceea ce le face ideale pentru studiile in vitro. Având în vedere potențialul lor tumorigen ridicat, ele formează ușor tumori atunci când sunt injectate în șoareci nudi, ceea ce le transformă într-un model robust pentru cercetarea cancerului.

Una dintre caracteristicile esențiale ale celulelor LN229 este prezența unei gene p53 (TP53) mutante, cu o mutație specifică CCT (Pro) în CTT (Leu) la codonul 98. Această mutație contribuie semnificativ la comportamentul agresiv al liniei celulare și la rezistența la apoptoză. În plus, celulele LN229 au o genă PTEN de tip sălbatic, dar prezintă deleții homozigote în genele supresoare de tumori p16 și p14ARF, care sunt reglatoare vitale ale ciclului celular și apoptozei. Aceste modificări genetice fac din LN229 un model valoros pentru studierea impactului acestor mutații asupra biologiei tumorale și a rezistenței terapeutice.

Celulele LN229 sunt deosebit de utile în studiile privind apoptoza. Acestea suferă apoptoză la stimularea cu ligand Fas, moartea celulară survenind în decurs de 16 ore. În mod interesant, în timp ce expresia Bcl-2 poate proteja celulele LN229 de apoptoza indusă de ligandul Fas, aceasta oferă doar o protecție limitată împotriva apoptozei induse de puromicină, un inhibitor al sintezei proteinelor. Acest model de rezistență selectivă face din celulele LN229 un model esențial pentru înțelegerea mecanismelor moleculare ale apoptozei în glioblastom și pentru testarea potențialelor terapii de modulare a apoptozei. Ca toate modelele de cercetare in vitro, celulele LN229 nu sunt adecvate pentru aplicații terapeutice sau in vivo.

Organism Om

Tissue Creier, cortexul frontal parieto-occipital drept

Disease Glioblastom

Synonyms LN 229, LN229, LNT-229

Caracteristici

Age 60 de ani

Gender Femei

Ethnicity Europeană

Morphology Epitelial

Celule LN229 | 305043

Growth properties	Aderent
--------------------------	---------

Date de reglementare

Citation	LN229 (număr de catalog Cytion 305043)
-----------------	--

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

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

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

Date biomoleculare

Manipulare

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
--------------------	--------------------------------

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

Doubling time	31 de ore
----------------------	-----------

Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
---------------------	--

Fluid renewal	de 2 până la 3 ori pe săptămână
----------------------	---------------------------------

Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.
----------------------	---

Celule LN229 | 305043

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule LN229 | 305043

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.