

Cellules LN229 | 305043

Informations générales

Description

LN229 est une lignée cellulaire humaine de glioblastome dérivée d'une patiente blanche de 60 ans atteinte d'un glioblastome multiforme (GBM), en particulier du cortex frontal pariéto-occipital droit. Le glioblastome est l'une des formes les plus agressives et les plus mortelles de cancer du cerveau, et les cellules LN229 sont largement utilisées dans la recherche pour comprendre les fondements moléculaires de la maladie et pour développer des stratégies thérapeutiques potentielles. Les cellules présentent une morphologie de type épithélial et des propriétés de croissance adhérente, ce qui les rend idéales pour les études in vitro. Compte tenu de leur potentiel tumorigène élevé, elles forment facilement des tumeurs lorsqu'elles sont injectées dans des souris nude, ce qui en fait un modèle robuste pour la recherche sur le cancer.

L'une des caractéristiques essentielles des cellules LN229 est la présence d'un gène p53 muté (TP53), avec une mutation spécifique de CCT (Pro) en CTT (Leu) au codon 98. Cette mutation contribue de manière significative au comportement agressif de la lignée cellulaire et à sa résistance à l'apoptose. En outre, les cellules LN229 possèdent un gène PTEN de type sauvage, mais elles présentent des délétions homozygotes dans les gènes suppresseurs de tumeurs p16 et p14ARF, qui sont des régulateurs vitaux du cycle cellulaire et de l'apoptose. Ces altérations génétiques font de LN229 un modèle précieux pour étudier l'impact de ces mutations sur la biologie des tumeurs et la résistance thérapeutique.

Les cellules LN229 sont particulièrement utiles pour les études sur l'apoptose. Elles subissent l'apoptose après stimulation par le ligand Fas, la mort cellulaire survenant dans les 16 heures. Il est intéressant de noter que si l'expression de Bcl-2 peut protéger les cellules LN229 contre l'apoptose induite par le ligand Fas, elle n'offre qu'une protection limitée contre l'apoptose induite par la puromycine, un inhibiteur de la synthèse des protéines. Cette résistance sélective fait des cellules LN229 un modèle essentiel pour comprendre les mécanismes moléculaires de l'apoptose dans le glioblastome et pour tester des thérapies potentielles de modulation de l'apoptose. Comme tous les modèles de recherche in vitro, les cellules LN229 ne conviennent pas aux applications thérapeutiques ou in vivo.

Organism Humain

Tissue Cerveau, cortex pariéto-occipital frontal droit

Disease Glioblastome

Synonyms LN 229, LN229, LNT-229

Caractéristiques

Age 60 ans

Gender Femme

Ethnicity Européen

Cellules LN229 | 305043

Morphology Épithéliale**Growth properties** Adhérent

Données réglementaires

Citation LN229 (numéro de catalogue Cytion 305043)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0393

Données biomoléculaires

Manipulation

Culture Medium DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO₃, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 31 heures**Subculturing** Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.**Split ratio** 1:2 à 1:5**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine

Cellules LN229 | 305043

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

Cellules LN229 | 305043

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.