

Cellule LN229 | 305043

Informazioni generali

Description

LN229 è una linea cellulare umana di glioblastoma derivata da un paziente bianco di 60 anni affetto da glioblastoma multiforme (GBM), in particolare dalla corteccia frontale parieto-occipitale destra. Il glioblastoma è una delle forme più aggressive e letali di cancro al cervello e le cellule LN229 sono ampiamente utilizzate nella ricerca per comprendere le basi molecolari della malattia e sviluppare potenziali strategie terapeutiche. Le cellule hanno una morfologia simile a quella epiteliale e presentano proprietà di crescita aderente, che le rendono ideali per gli studi in vitro. Dato il loro elevato potenziale tumorigenico, formano prontamente tumori quando vengono iniettate in topi nudi, il che le rende un modello robusto per la ricerca sul cancro.

Una delle caratteristiche fondamentali delle cellule LN229 è la presenza di un gene p53 mutato (TP53), con una specifica mutazione da CCT (Pro) a CTT (Leu) al codone 98. Questa mutazione contribuisce in modo significativo alla formazione del tumore. Questa mutazione contribuisce in modo significativo al comportamento aggressivo e alla resistenza all'apoptosi della linea cellulare. Inoltre, le cellule LN229 hanno un gene PTEN di tipo selvatico, ma presentano delezioni omozigoti nei geni soppressori tumorali p16 e p14ARF, che sono regolatori vitali del ciclo cellulare e dell'apoptosi. Queste alterazioni genetiche rendono le LN229 un modello prezioso per studiare l'impatto di queste mutazioni sulla biologia del tumore e sulla resistenza terapeutica.

Le cellule LN229 sono particolarmente utili per gli studi sull'apoptosi. Esse vanno incontro ad apoptosi dopo la stimolazione con il ligando Fas, con morte cellulare che si verifica entro 16 ore. È interessante notare che, mentre l'espressione di Bcl-2 può proteggere le cellule LN229 dall'apoptosi indotta dal ligando Fas, offre solo una protezione limitata contro l'apoptosi indotta dalla puomicina, un inibitore della sintesi proteica. Questo modello di resistenza selettiva rende le cellule LN229 un modello critico per la comprensione dei meccanismi molecolari dell'apoptosi nel glioblastoma e per la sperimentazione di potenziali terapie che modifichino l'apoptosi. Come tutti i modelli di ricerca in vitro, le cellule LN229 non sono adatte per applicazioni terapeutiche o in vivo.

Organism

Umano

Tissue

Cervello, corteccia frontale parieto-occipitale destra

Disease

Glioblastoma

Synonyms

LN 229, LN229, LNT-229

Caratteristiche

Age

60 anni

Gender

Donna

Ethnicity

Europeo

Morphology

Epiteliale

Cellule LN229 | 305043

Growth properties	Aderente
--------------------------	----------

Dati normativi

Citation	LN229 (numero di catalogo Cytion 305043)
-----------------	--

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

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

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

Dati biomolecolari

Manipolazione

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO ₃ , w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)
-----------------------	---

Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
--------------------	---

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

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

Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
---------------------	---

Split ratio	da 1:2 a 1:5
--------------------	--------------

Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
----------------------	-------------------------------

Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.
----------------------	--

Cellule LN229 | 305043

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule LN229 | 305043

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.