

Células LN229 | 305043**Informações gerais****Description**

A LN229 é uma linha celular de glioblastoma humano derivada de uma doente branca de 60 anos com glioblastoma multiforme (GBM), especificamente do córtex parieto-occipital frontal direito. O glioblastoma é uma das formas mais agressivas e letais de cancro do cérebro e as células LN229 são amplamente utilizadas na investigação para compreender os fundamentos moleculares da doença e para desenvolver potenciais estratégias terapêuticas. As células apresentam uma morfologia semelhante à epitelial e exibem propriedades de crescimento aderente, o que as torna ideais para estudos in vitro. Dado o seu elevado potencial tumorigénico, formam facilmente tumores quando injectadas em ratinhos nus, o que as torna um modelo robusto para a investigação do cancro.

Uma das características críticas das células LN229 é a presença de um gene p53 mutado (TP53), com uma mutação específica de CCT (Pro) para CTT (Leu) no códon 98. Esta mutação contribui significativamente para o comportamento agressivo da linha celular e para a resistência à apoptose. Além disso, as células LN229 têm um gene PTEN de tipo selvagem, mas exibem deleções homozigóticas nos genes supressores de tumor p16 e p14ARF, que são reguladores vitais do ciclo celular e da apoptose. Estas alterações genéticas fazem das células LN229 um modelo valioso para estudar o impacto destas mutações na biologia tumoral e na resistência terapêutica.

As células LN229 são particularmente úteis em estudos de apoptose. Sofrem apoptose após estimulação com o ligando Fas, com a morte celular a ocorrer no espaço de 16 horas. Curiosamente, embora a expressão de Bcl-2 possa proteger as células LN229 da apoptose induzida pelo ligando Fas, oferece apenas uma proteção limitada contra a apoptose induzida pela puomicina, um inibidor da síntese proteica. Este padrão de resistência selectiva faz das células LN229 um modelo essencial para compreender os mecanismos moleculares da apoptose no glioblastoma e para testar potenciais terapias moduladoras da apoptose. Tal como acontece com todos os modelos de investigação in vitro, as células LN229 não são adequadas para aplicações terapêuticas ou in vivo.

Organism Humano**Tissue** Cérebro, córtex frontal parieto-occipital direito**Disease** Glioblastoma**Synonyms** LN 229, LN229, LNT-229**Caraterísticas****Age** 60 anos**Gender** Feminino**Ethnicity** Europeu

Células LN229 | 305043**Morphology** Epitelial**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** LN229 (número de catálogo Cytion 305043)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0393**Dados biomoleculares****Manuseamento****Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 31 horas**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Split ratio** 1:2 a 1:5**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana

Células LN229 | 305043

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

Células LN229 | 305043

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.