

Клетки LN18 | 305822

Обща информация

Description

LN-18 е човешка клетъчна линия на малигнен глиом, първоначално получена от тумор на темпоралния лоб на възрастен пациент от мъжки пол с диагноза мултиформен глиобластом (степен IV по Кернохан). Линията е създадена in vitro и е поддържана в продължение на повече от 115 пасажа в монослойна култура. Клетките LN-18 имат биполарна или звездовидна морфология с плеоморфни ядра и имат време на удвояване приблизително 72 часа. Въпреки че ранните култури и биопсичният материал експресират глиален фибриларен киселинен протеин (GFAP), синтез на GFAP не се наблюдава в по-късните пасажи. Въпреки това глиалният произход на клетките е потвърден чрез ултраструктурен анализ. Клетките LN-18 също така показва наличие на Ia-подобни антигени на повърхността си и бяха способни да синтезират високи нива на фибронектин, като и двете характеристики са от значение за глиомната патология и взаимодействията между тумор и гостоприемник.

По отношение на туморогенността клетките LN-18 са способни да образуват солидни тумори при инжектиране в голи мишки, като получените тумори са трансплантируеми и хистологично подобни на оригиналния глиобластом. Кариотипичният анализ разкрива наличието на три последователни маркерни хромозоми, което осигурява цитогенетичен отпечатък за клетъчната линия. Въпреки липсата на откриваем GFAP или S-100 протеин в по-късните пасажи, линията LN-18 остава ценен модел за изучаване на биологията на човешкия глиом, особено във връзка с експресията на клетъчни повърхностни антигени, туморогенността и взаимодействията с извънклетъчния матрикс чрез производството на фибронектин. Клетъчната линия също така притежава стабилни характеристики на растеж и се поддава на криоконсервация, което я прави подходяща за дългосрочна експериментална употреба.

Organism

Човек

Tissue

Мозък, десен темпорален лоб

Disease

Глиобластом

Synonyms

LN 18, LN18, LN018

Характеристики

Age

61 години

Gender

Мъжки

Ethnicity

Кавказки

Growth properties

Придържащи се

Клетки LN18 | 305822

Регулаторни данни

Citation	LN-18 (каталожен номер 305822 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0392

Биомолекулярни данни

Antigen expression	HLA A2, A9, B5, BW35, DRW3
Oncogenes	P53+ (мутирал, мутация TGT (Cys) --> TCT (Ser) в кодон 238); PTEN+ (див тип); p16- (заличен); p14ARF- (заличен)
Tumorigenic	Да; Да, образува тумори в голи мишки
Mutational profile	Мутация: CDKN2A, Хомозиготна. Мутация, PIK3CB, Simple, p.Glu1051Lys (c.3151G>A), Хомозиготен, TP53, Simple, p.Cys238Ser (c.713G>C), Хомозиготен

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 5% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	72 часа
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки LN18 | 305822

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки LN18 | 305822

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.