

Buňky LN18 | 305822

Obecné informace

Description

LN-18 je lidská maligní gliomová buněčná linie původně odvozená z nádoru temporálního laloku dospělého muže s diagnózou multiforního glioblastomu (Kernohanův stupeň IV). Tato linie byla vytvořena in vitro a byla udržována po více než 115 pasáží v monovrstevné kultuře. Buňky LN-18 vykazují bipolární nebo hvězdicovitou morfolologii s pleomorfními jádry a mají dobu zdvojení přibližně 72 hodin. Ačkoli rané kultury a bioptický materiál exprimovaly gliální fibrilární kyselý protein (GFAP), v pozdějších pasážích nebyla syntéza GFAP pozorována. Gliový původ buněk byl však potvrzen ultrastrukturální analýzou. Buňky LN-18 rovněž vykazovaly na svém povrchu přítomnost antigenů podobných Ia a byly schopny syntetizovat vysoké množství fibronektinu, což jsou vlastnosti důležité pro patologii gliomu a interakce mezi nádorem a hostitelem.

Z hlediska tumorigenity jsou buňky LN-18 schopny vytvářet solidní nádory po injekci do nahých myší, přičemž vzniklé nádory jsou transplantovatelné a histologicky podobné původnímu glioblastomu. Karyotypová analýza odhalila přítomnost tří konzistentních markerových chromozomů, které poskytují cytogenetický otisk buněčné linie. Navzdory absenci detekovatelného proteinu GFAP nebo S-100 v pozdějších pasážích zůstává linie LN-18 cenným modelem pro studium biologie lidského gliomu, zejména ve vztahu k expresi povrchových antigenů buněk, tumorigenitě a interakcím s extracelulární matrix prostřednictvím produkce fibronektinu. Tato buněčná linie má také stabilní růstové vlastnosti a je vhodná pro kryokonzervaci, takže je vhodná pro dlouhodobé experimentální použití.

Organism

Člověk

Tissue

Mozek, pravý spánkový lalok

Disease

Glioblastom

Synonyms

LN 18, LN18, LN018

Charakteristika

Age

61 let

Gender

Muži

Ethnicity

Kavkazský

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje

Citation

LN-18 (katalogové číslo Cytion 305822)

Buňky LN18 | 305822

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0392**Biomolekulární data****Antigen expression** HLA A2, A9, B5, BW35, DRW3**Oncogenes** P53+ (mutovaný, mutace TGT (Cys) --> TCT (Ser) na kodonu 238); PTEN+ (divoký typ); p16- (odstraněn); p14ARF- (odstraněn)**Tumorigenic** Ano; Ano, vytváří nádory u nahých myší**Mutational profile** Mutace: Homozygotní mutace: delece genu CDKN2A. Mutace, PIK3CB, Simple, p.Glu1051Lys (c.3151G>A), Homozygotní, TP53, Simple, p.Cys238Ser (c.713G>C), Homozygotní**Zpracování****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplněte médium o 5 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 72 hodin**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky LN18 | 305822**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky LN18 | 305822

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.