

LN18 rakud | 305822

Üldine teave

Description

LN-18 on inimese pahaloomuline glioomi rakuliin, mis on algselt saadud täiskasvanud meessoost patsiendi temporaalluuma kasvajast, kellel diagnoositi glioblastoma multiform (Kernohani IV aste). Liin loodi in vitro ja seda on hoitud üle 115 läbimise monokihilises kultuuris. LN-18 rakkudel on bipolaarne või stellaatne morfoloogia koos pleomorfsete tuumadega ja nende kahekordistumisaeg on ligikaudu 72 tundi. Kuigi varajased kultuurid ja biopsiamaterjal väljendasid gliafibrillaarset happelist valku (GFAP), ei täheldatud GFAP sünteesi hilisemates faasides. Siiski kinnitati rakkude gliaalset päritolu ultrastruktuurse analüüsi abil. LN-18 rakud näitasid oma pinnal ka la-taoliste antigeenide olemasolu ja olid võimelised sünteesima suurel hulgal fibronektiini, mis on mõlemad olulised glioomi patoloogia ja kasvaja ja peremehe vaheliste interaktsioonide seisukohast.

LN-18 rakud on võimelised moodustama alasti hiirtele süstituna soliidseid kasvajaid, kusjuures saadud kasvajakud on siirdatavad ja histoloogiliselt sarnanevad algse glioblastoomiga. Karyotüüpiline analüüs näitas kolme järjepideva markerkromosoomi olemasolu, mis annab rakuliinile tsütogeneetilise sõrmejälje. Hoolimata sellest, et hilisemates faasides ei olnud GFAP või S-100 valk tuvastatav, on LN-18 liin endiselt väärtuslik mudel inimese glioomi bioloogia uurimiseks, eriti seoses rakupinna antigeenide ekspressiooni, kasvajakude tekkepõhisuse ja rakuvälise maatriksi interaktsioonidega fibronektiini tootmise kaudu. Rakuliinil on ka stabiilsed kasvuomadused ja see on krüokonserveeritav, mistõttu sobib see pikaajaliseks eksperimentaalseks kasutamiseks.

Organism Inimene

Tissue Aju, parempoolne ajutüvi

Disease Glioblastoom

Synonyms LN 18, LN18, LN018

Omadused

Age 61 aastat

Gender Mees

Ethnicity Kaukaasia

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation LN-18 (Cytioni katalooginumber 305822)

LN18 rakud | 305822

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0392**Biomolekulaarsed andmed****Antigen expression** HLA A2, A9, B5, BW35, DRW3**Oncogenes** P53+ (mutatsioon, TGT (Cys) --> TCT (Ser) mutatsioon koodonis 238); PTEN+ (metsikut tüüpi); p16- (eemaldatud); p14ARF- (eemaldatud)**Tumorigenic** Jah; Jah, moodustab alasti hiirtel kasvajaid**Mutational profile** Mutatsioon: CDKN2A, homosügootne. Mutatsioon, PIK3CB, Simple, p.Glu1051Lys (c.3151G>A), homosügootne, TP53, Simple, p.Cys238Ser (c.713G>C), homosügootne**Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada keskkonda 5% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 72 tundi**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

LN18 rakud | 305822

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

LN18 rakud | 305822

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.