

LN18-solut | 305822

Yleisiä tietoja

Description

LN-18 on ihmisen pahanlaatuinen glioomasolulinja, joka on alun perin peräisin aikuisen miespotilaan ohimolohkokasvaimesta, jolla oli diagnosoitu glioblastoma multiforme (Kernohanin aste IV). Linja perustettiin in vitro, ja sitä on ylläpidetty yli 115 solukerroksen ajan yksikerrosviljelmässä. LN-18-soluilla on bipolaarinen tai tähtimäinen morfologia ja pleomorfiset tumat, ja niiden kaksinkertaistumisaika on noin 72 tuntia. Vaikka varhaiset viljelmät ja biopsiamateriaali ilmentävät gliafibrillaarista happoproteiinia (GFAP), GFAP-synteesiä ei havaittu myöhemmissä vaiheissa. Solujen gliaalinen alkuperä vahvistettiin kuitenkin ultrastruktuurianalyysin avulla. LN-18-soluissa havaittiin myös la-antigeenien kaltaisia antigeenejä niiden pinnalla ja ne kykenivät syntetisoimaan suuria määriä fibronektiinia, jotka molemmat ovat tärkeitä gliooman patologian ja kasvaimen ja isännän vuorovaikutuksen kannalta.

Kasvainvaikuttavuuden osalta LN-18-solut kykenevät muodostamaan kiinteitä kasvaimia, kun ne injektoidaan alasti eläviin hiiriin, jolloin syntyneet kasvaimet ovat siirrettävissä ja histologisesti samanlaisia kuin alkuperäinen glioblastooma. Karyotyypin analyysi paljasti kolme yhdenmukaista merkkikromosomia, mikä antaa solulinjalle sytogeneettisen sormenjäljen. Vaikka GFAP- tai S-100-proteiinia ei ollut havaittavissa myöhemmissä läpikäynneissä, LN-18-solulinja on edelleen arvokas malli ihmisen gliooman biologian tutkimiseen, erityisesti solujen pinta-antigeenien ilmentymisen, kasvainten muodostumisen ja solunulkoisen matriksin vuorovaikutusten osalta fibronektiinin tuotannon kautta. Solulinjalla on myös vakaat kasvuominaisuudet ja se on kryosäilytettävissä, joten se soveltuu pitkäaikaiseen kokeelliseen käyttöön.

Organism Ihminen

Tissue Aivot, oikea ohimolohko

Disease Glioblastooma

Synonyms LN 18, LN18, LN018

Ominaisuudet

Age 61 vuotta

Gender Mies

Ethnicity Kaukasialainen

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation LN-18 (Cytionin luettelonumero 305822)

LN18-solut | 305822

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0392**Biomolekyylitiedot****Antigen expression** HLA A2, A9, B5, BW35, DRW3, HLA A2, A9, B5, BW35, DRW3**Oncogenes** P53+ (mutaatio, TGT (Cys) --> TCT (Ser) mutaatio koodonissa 238); PTEN+ (villityyppi); p16- (poistettu); p14ARF- (poistettu)**Tumorigenic** Kyllä; Kyllä, muodostaa kasvaimia alasti elävissä hiirissä**Mutational profile** Mutaatio: CDKN2A, homotsygoottinen. Mutaatio, PIK3CB, yksinkertainen, p.Glu1051Lys (c.3151G>A), homotsygoottinen, TP53, yksinkertainen, p.Cys238Ser (c.713G>C), homotsygoottinen**Käsittely****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 5 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 72 tuntia**Freeze medium** Kryosäilytysmediaana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

LN18-solut | 305822

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

LN18-solut | 305822

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasma kontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.