

LN18 sejtek | 305822

Általános információk

Description

Az LN-18 egy humán rosszindulatú glióma sejtvonal, amely eredetileg egy felnőtt férfi beteg halántéklebenyének daganatából származik, akinél glioblastoma multiformét diagnosztizáltak (Kernohan IV. fokozat). A vonalat in vitro hozták létre, és több mint 115 passzázson keresztül tartották fenn monolayer kultúrában. Az LN-18 sejtek bipoláris vagy csillag alakú morfológiát mutatnak pleomorf sejtmaggal és körülbelül 72 órás megduplázódási idővel rendelkeznek. Bár a korai tenyészetek és a biopsziás anyag gliafibrilláris savas fehérjét (GFAP) expresszált, a GFAP szintézisét a későbbi passzázsokban nem figyelték meg. A sejtek gliális eredetét azonban ultrastrukturális elemzéssel megerősítették. Az LN-18 sejtek felszínükön Ia-szerű antigének jelenlétét is kimutatták, és képesek voltak nagy mennyiségű fibronectint szintetizálni, mindkét jellemző fontos a glióma patológiája és a tumor-gazda interakciók szempontjából.

A tumorigenitás szempontjából az LN-18 sejtek képesek szolid tumorok kialakítására, amikor mezitelen egerekbe injektálják őket, a keletkező tumorok transzplantálhatók és szövettanilag hasonlóak az eredeti glioblastómához. A kariotípusos elemzés három konzisztens markerkromoszóma jelenlétét mutatta ki, ami a sejtvonal citogenetikai ujjlenyomatát adja. Annak ellenére, hogy a későbbi passzázsokban nem volt kimutatható GFAP vagy S-100 fehérje, az LN-18 vonal továbbra is értékes modell marad a humán glióma biológiájának tanulmányozására, különösen a sejt felszíni antigének expressziójával, a tumorigenitással és az extracelluláris mátrix interakciókkal kapcsolatban a fibronectin termelésén keresztül. A sejtvonal stabil növekedési jellemzőkkel is rendelkezik, és alkalmas a kriokonzerválásra, így alkalmas hosszú távú kísérleti felhasználásra.

Organism

Emberi

Tissue

Agy, jobb halántéklebény

Disease

Glioblastoma

Synonyms

LN 18, LN18, LN018

Jellemzők

Age

61 év

Gender

Férfi

Ethnicity

Kaukázusi

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Citation

LN-18 (Cytion katalógusszám: 305822)

LN18 sejtek | 305822

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0392**Biomolekuláris adatok****Antigen expression** HLA A2, A9, B5, BW35, DRW3**Oncogenes** P53+ (mutálódott, TGT (Cys) --> TCT (Ser) mutáció a 238-as kodonnál); PTEN+ (vad típusú); p16- (törölt); p14ARF- (törölt)**Tumorigenic** Igen; Igen, daganatot képez meztelen egerekben**Mutational profile** Mutáció: CDKN2A, homozigóta. Mutáció, PIK3CB, Simple, p.Glu1051Lys (c.3151G>A), homozigóta, TP53, Simple, p.Cys238Ser (c.713G>C), homozigóta**A kezelése****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)**Supplements** A táptalajt 5% FBS-szel egészítjük ki**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 72 óra**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

LN18 sejtek | 305822

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

LN18 sejtek | 305822

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatói módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.