

LN18 šūnas | 305822

Vispārīga informācija

Description

LN-18 ir cilvēka ļaundabīgās gliomas šūnu līnija, kas sākotnēji iegūta no pieauguša vīrieša temporālās daivas audzēja, kuram diagnosticēta multiformā glioblastoma (Kernohan IV pakāpes). Šī līnija tika izveidota in vitro un ir uzturēta monoslāņa kultūrā vairāk nekā 115 reizes. LN-18 šūnām ir bipolāra vai zvaigžņveida morfoloģija ar pleomorfiem kodoliem, un to dubultošanās laiks ir aptuveni 72 stundas. Lai gan agrīnajās kultūrās un biopsijas materiālā ir gliālo fibrilāro skābo proteīnu (GFAP) ekspresija, vēlākajās pasāžās GFAP sintēze nav novērota. Tomēr šūnu gliālo izcelsmi apstiprināja, veicot ultrastrukturālo analīzi. LN-18 šūnas uz savas virsmas uzrādīja arī la līdzīgus antigēnus un spēja sintezēt augstu fibronektīna līmeni, kas ir abas īpašības, kuras ir būtiskas gliomas patoloģijai un audzēja un saimnieka mijiedarbībai.

Runājot par audzēja aktivitāti, LN-18 šūnas, injicējot nude pelēm, spēj veidot cietus audzējus, un iegūtie audzēji ir transplantējami un histoloģiski līdzīgi sākotnējai glioblastomai. Kariotipiskā analīze atklāja trīs konsekventu marķieru hromosomu klātbūtni, tādējādi nodrošinot šūnu līnijas citogēnisko pirkstu nospiedumu. Neraugoties uz to, ka vēlākajās pasāžās GFAP vai S-100 proteīna klātbūtne nav konstatējama, LN-18 līnija joprojām ir vērtīgs modelis cilvēka gliomas bioloģijas izpētei, jo īpaši saistībā ar šūnu virsmas antigēnu ekspresiju, tumorigenitāti un ekstracelulārā matricas mijiedarbību ar fibronektīna ražošanu. Šai šūnu līnijai piemīt arī stabilas augšanas īpašības, un tā ir piemērota kriokonservēšanai, kas to padara piemērotu ilgtermiņa eksperimentālai izmantošanai.

Organism Cilvēks

Tissue Smadzenes, labā spuras daiva

Disease Glioblastoma

Synonyms LN 18, LN18, LN018

Raksturojums

Age 61 gads

Gender Vīrieši

Ethnicity Kaukāzietis

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation LN-18 (Cytion kataloga numurs 305822)

LN18 šūnas | 305822

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0392**Biomolekulārie dati****Antigen expression** HLA A2, A9, B5, BW35, DRW3**Oncogenes** P53+ (mutācija, TGT (Cys) --> TCT (Ser) mutācija kodonā 238); PTEN+ (savvaļas tips); p16- (svītrots); p14ARF- (svītrots)**Tumorigenic** Jā; Jā, veido audzējus nude peļu organismā**Mutational profile** Mutācija: CDKN2A, homozigotiska. Mutācija, PIK3CB, vienkārša, p.Glu1051Lys (c.3151G>A), homozigotiska, TP53, vienkārša, p.Cys238Ser (c.713G>C), homozigotiska**Darbs ar****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildināt barotni ar 5% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 72 stundas**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

LN18 šūnas | 305822

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

LN18 šūnas | 305822

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.