

LN18 Cellen | 305822

Algemene informatie

Description

LN-18 is een humane kwaadaardige glioomcellijn die oorspronkelijk is afgeleid van een temporale kwabtuumor van een volwassen mannelijke patiënt met de diagnose glioblastoma multiforme (Kernohan graad IV). De lijn werd in vitro gemaakt en is gedurende meer dan 115 passages in monolaagcultuur in stand gehouden. LN-18 cellen vertonen een bipolaire of stellate morfologie met pleomorfe kernen en hebben een verdubbelingstijd van ongeveer 72 uur. Hoewel vroege kweken en biopsiemateriaal gliaal fibrillair zuur proteïne (GFAP) tot expressie brachten, werd GFAP-synthese niet waargenomen in latere passages. De gliale oorsprong van de cellen werd echter bevestigd via ultrastructurele analyse. LN-18 cellen toonden ook de aanwezigheid van Ia-achtige antigenen op hun oppervlak en waren in staat om hoge niveaus van fibronectine te synthetiseren, beide eigenschappen die relevant zijn voor glioompathologie en tumor-gastheer interacties.

In termen van tumorigeniciteit zijn LN-18 cellen in staat om solide tumoren te vormen wanneer ze geïnjecteerd worden in naakte muizen, waarbij de resulterende tumoren transplanteerbaar zijn en histologisch lijken op het oorspronkelijke glioblastoom. Karyotypische analyse onthulde de aanwezigheid van drie consistente markerchromosomen, wat een cytogenetische vingerafdruk voor de cellijn oplevert. Ondanks het ontbreken van detecteerbaar GFAP of S-100 eiwit in latere passages, blijft de LN-18 lijn een waardevol model voor het bestuderen van menselijke glioom biologie, vooral met betrekking tot celoppervlak antigeenexpressie, tumorigeniciteit en extracellulaire matrix interacties door fibronectine productie. De cellijn heeft ook stabiele groeikenmerken en is geschikt voor cryopreservatie, waardoor het geschikt is voor langdurig experimenteel gebruik.

Organism Mens

Tissue Hersenen, rechter temporale kwab

Disease Glioblastoom

Synonyms LN 18, LN18, LN018

Kenmerken

Age 61 jaar

Gender Mannelijk

Ethnicity Kaukasisch

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

LN18 Cellen | 305822

Citation LN-18 (Cytion catalogusnummer 305822)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0392

Biomoleculaire gegevens

Antigen expression HLA A2, A9, B5, BW35, DRW3

Oncogenes P53+ (gemuteerd, TGT (Cys) --> TCT (Ser) mutatie bij codon 238); PTEN+ (wild-type); p16- (verwijderd); p14ARF- (verwijderd)

Tumorigenic Ja; Ja, vormt tumoren in naakte muizen

Mutational profile Mutatie: Gen deletie, CDKN2A, Homozygoot. Mutatie, PIK3CB, eenvoudig, p.Glu1051Lys (c.3151G>A), homozygoot, TP53, eenvoudig, p.Cys238Ser (c.713G>C), homozygoot

Omgaan met

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements Vul het medium aan met 5% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 72 uur

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

LN18 Cellen | 305822

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

LN18 Cellen | 305822

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.