

LN18-celler | 305822

Generell informasjon

Description

LN-18 er en human malign gliomcellelinje som opprinnelig stammer fra en svulst i tinninglappen hos en voksen mannlig pasient som ble diagnostisert med glioblastoma multiforme (Kernohan grad IV). Linjen ble etablert in vitro og har blitt vedlikeholdt i over 115 passasjer i monolagskultur. LN-18-celler har bipolar eller stellat morfologi med pleomorfe kjerner og en fordoblingstid på ca. 72 timer. Selv om tidlige kulturer og biopsimateriale uttrykte glial fibrillært surt protein (GFAP), ble det ikke observert GFAP-syntese i senere passasjer. Cellenes gliale opprinnelse ble imidlertid bekreftet ved hjelp av ultrastrukturell analyse. LN-18-celler viste også tilstedeværelse av Ia-lignende antigener på overflaten og var i stand til å syntetisere høye nivåer av fibronektin, begge deler relevant for gliompatologi og tumor-vert-interaksjoner.

Når det gjelder tumorigenitet, er LN-18-celler i stand til å danne solide svulster når de injiseres i nakne mus, og de resulterende svulstene er transplanterbare og ligner histologisk på det opprinnelige glioblastomet. Karyotypisk analyse avslørte tilstedeværelsen av tre konsistente markørkromosomer, noe som gir et cytogenetisk fingeravtrykk for cellelinjen. Til tross for at GFAP- eller S-100-protein ikke kunne påvises i senere passasjer, er LN-18-linjen fortsatt en verdifull modell for studier av gliombiologi, spesielt med hensyn til uttrykk av celleoverflateantigener, tumorigenitet og interaksjoner med ekstracellulær matriks gjennom fibronektinproduksjon. Cellelinjen har også stabile vekstegenskaper og er egnet for kryokonservering, noe som gjør den egnet for langvarig eksperimentell bruk.

Organism Menneskelig

Tissue Hjerne, høyre tinninglapp

Disease Glioblastom

Synonyms LN 18, LN18, LN018

Kjennetegn

Age 61 år

Gender Mann

Ethnicity Kaukasisk

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation LN-18 (Cytion katalognummer 305822)

LN18-celler | 305822

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0392**Biomolekylære data****Antigen expression** HLA A2, A9, B5, BW35, DRW3**Oncogenes** P53+ (mutert, TGT (Cys) --> TCT (Ser)-mutasjon ved kodon 238); PTEN+ (villtype); p16- (slettet); p14ARF- (slettet)**Tumorigenic** Ja; Ja, danner svulster i nakne mus**Mutational profile** Mutasjon: Gendeleksjon, CDKN2A, homozygot. Mutasjon, PIK3CB, Enkel, p.Glu1051Lys (c.3151G>A), Homozygot, TP53, Enkel, p.Cys238Ser (c.713G>C), Homozygot**Håndtering****Culture Medium** DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 5 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 72 timer**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobybeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

LN18-celler | 305822

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

LN18-celler | 305822

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.