

Komórki LN18 | 305822**Informacje ogólne****Description**

LN-18 to ludzka linia komórek glejaka złośliwego pierwotnie pochodząca z guza płata skroniowego dorosłego mężczyzny, u którego zdiagnozowano glejaka wielopostaciowego (stopień IV wg Kernohana). Linia została utworzona in vitro i była utrzymywana przez ponad 115 pasażów w hodowli jednowarstwowej. Komórki LN-18 wykazują morfologię dwubiegunową lub gwiazdzistą z pleomorficznymi jądrami, a ich czas podwojenia wynosi około 72 godzin. Choć wczesne hodowle i materiał biopsyjny wyrażały kwaśne białko fibrylarne gleju (GFAP), syntezy GFAP nie zaobserwowano w późniejszych pasażach. Jednakże, glejowe pochodzenie komórek zostało potwierdzone poprzez analizę ultrastrukturalną. Komórki LN-18 wykazywały również obecność antygenów podobnych do Ia na swojej powierzchni i były zdolne do syntezy wysokich poziomów fibronektyny, obie cechy istotne dla patologii glejaka i interakcji nowotwór-gospodarz.

Pod względem nowotworowości, komórki LN-18 są zdolne do tworzenia litych guzów po wstrzyknięciu nagim myszom, przy czym powstałe guzy są transplantowalne i histologicznie podobne do pierwotnego glejaka. Analiza kariotypowa ujawniła obecność trzech spójnych chromosomów markerowych, zapewniając cytogenetyczny odcisk palca dla linii komórkowej. Pomimo braku wykrywalnego białka GFAP lub S-100 w późniejszych pasażach, linia LN-18 pozostaje cennym modelem do badania biologii ludzkiego glejaka, szczególnie w odniesieniu do ekspresji antygenów powierzchniowych komórek, nowotworowości i interakcji macierzy zewnątrzkomórkowej poprzez produkcję fibronektyny. Linia komórkowa posiada również stabilną charakterystykę wzrostu i jest podatna na kriokonserwację, dzięki czemu nadaje się do długotrwałego użytku eksperymentalnego.

Organism Człowiek**Tissue** Mózg, prawy płat skroniowy**Disease** Glejak wielopostaciowy**Synonyms** LN 18, LN18, LN018**Charakterystyka****Age** 61 lat**Gender** Mężczyzna**Ethnicity** Kaukaski**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne**

Komórki LN18 | 305822**Citation** LN-18 (numer katalogowy Cytion 305822)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0392**Dane biomolekularne****Antigen expression** HLA A2, A9, B5, BW35, DRW3**Oncogenes** P53+ (zmutowany, mutacja TGT (Cys) --> TCT (Ser) w kodonie 238); PTEN+ (typ dziki); p16- (usunięty); p14ARF- (usunięty)**Tumorigenic** Tak; Tak, tworzy guzy u nagich myszy**Mutational profile** Mutacja: Delecja genu, CDKN2A, Homozygotyczny. Mutacja, PIK3CB, Simple, p.Glu1051Lys (c.3151G>A), Homozygotyczny, TP53, Simple, p.Cys238Ser (c.713G>C), Homozygotyczny**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzupelnic podloze 5% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 72 godziny**Freeze medium** Jako pozywki do kriokonserwacji uzywamy kompletnej pozywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej zywnosci po rozmrozeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), ktora zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiekszenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki LN18 | 305822

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki LN18 | 305822

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.