

**Células LN18 | 305822****Informações gerais****Description**

A LN-18 é uma linha celular de glioma maligno humano originalmente derivada de um tumor do lobo temporal de um doente adulto do sexo masculino a quem foi diagnosticado glioblastoma multiforme (grau IV de Kernohan). A linha foi estabelecida in vitro e foi mantida durante mais de 115 passagens em cultura em monocamada. As células LN-18 apresentam morfologias bipolares ou estreladas com núcleos pleomórficos e têm um tempo de duplicação de aproximadamente 72 horas. Embora as culturas iniciais e o material de biópsia expressassem a proteína ácida fibrilar glial (GFAP), a síntese de GFAP não foi observada em passagens posteriores. No entanto, a origem glial das células foi confirmada através de análise ultra-estrutural. As células LN-18 também mostraram a presença de antígenos Ia-like na sua superfície e foram capazes de sintetizar níveis elevados de fibronectina, ambas características relevantes para a patologia do glioma e para as interações tumor-hospedeiro.

Em termos de tumorigenicidade, as células LN-18 são capazes de formar tumores sólidos quando injectadas em ratinhos nus, sendo os tumores resultantes transplantáveis e histologicamente semelhantes ao glioblastoma original. A análise cariotípica revelou a presença de três cromossomas marcadores consistentes, fornecendo uma impressão digital citogenética para a linha celular. Apesar da ausência de proteínas GFAP ou S-100 detectáveis em passagens posteriores, a linha LN-18 continua a ser um modelo valioso para o estudo da biologia do glioma humano, especialmente em relação à expressão de antígenos de superfície celular, tumorigenicidade e interações da matriz extracelular através da produção de fibronectina. A linha celular também possui características de crescimento estáveis e é passível de criopreservação, o que a torna adequada para utilização experimental a longo prazo.

**Organism** Humano**Tissue** Cérebro, lobo temporal direito**Disease** Glioblastoma**Synonyms** LN 18, LN18, LN018**Caraterísticas****Age** 61 anos**Gender** Masculino**Ethnicity** Caucasiano**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares**

## Células LN18 | 305822

**Citation** LN-18 (número de catálogo Cytion 305822)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_0392

## Dados biomoleculares

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

**Oncogenes** P53+ (mutado, mutação TGT (Cys) --> TCT (Ser) no códon 238); PTEN+ (tipo selvagem); p16- (suprimido); p14ARF- (suprimido)

**Tumorigenic** Sim; Sim, forma tumores em ratinhos nus

**Mutational profile** Mutação: Deleção do gene, CDKN2A, Homozigoto. Mutação, PIK3CB, Simples, p.Glu1051Lys (c.3151G>A), Homozigoto, TP53, Simples, p.Cys238Ser (c.713G>C), Homozigoto

## Manuseamento

**Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)

**Supplements** Completar o meio com 5% de FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 72 horas

**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## Células LN18 | 305822

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células LN18 | 305822

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.