

Bunky LN18 | 305822**Všeobecné informácie****Description**

LN-18 je ľudská bunková línia malígneho gliómu, ktorá bola pôvodne odvodená z nádoru temporálneho laloku dospelého muža s diagnózou multiformného glioblastómu (stupeň IV podľa Kernohana). Táto línia bola vytvorená in vitro a bola udržiavaná viac ako 115 pasáží v monovrstvovej kultúre. Bunky LN-18 majú bipolárnu alebo hviezdicovú morfológiu s pleomorfnými jadrami a zdvojnásobujú sa približne 72 hodín. Hoci skoré kultúry a bioptický materiál exprimovali gliový fibrilárny kyselý proteín (GFAP), v neskorších pasážach sa syntéza GFAP nepozorovala. Gliový pôvod buniek sa však potvrdil prostredníctvom ultraštruktúrálnej analýzy. Bunky LN-18 tiež vykazovali prítomnosť antigénov podobných Ia na svojom povrchu a boli schopné syntetizovať vysoké hladiny fibronektínu, čo sú vlastnosti dôležité pre patológiu gliómov a interakcie medzi nádorom a hostiteľom.

Pokiaľ ide o nádorovú aktivitu, bunky LN-18 sú schopné vytvárať solídne nádory po injekčnom podaní nahým myšiam, pričom vzniknuté nádory sú transplantovateľné a histologicky podobné pôvodnému glioblastómu. Karyotypová analýza odhalila prítomnosť troch konzistentných markerových chromozómov, ktoré poskytujú cytogenetický odtlačok bunkovej línie. Napriek absencii detekovateľného proteínu GFAP alebo S-100 v neskorších pasážach zostáva línia LN-18 cenným modelom na štúdium biológie ľudského gliómu, najmä v súvislosti s expresiou povrchových antigénov buniek, nádorovou aktivitou a interakciami extracelulárnej matrix prostredníctvom produkcie fibronektínu. Bunková línia má tiež stabilné rastové vlastnosti a je vhodná na kryokonzerváciu, vďaka čomu je vhodná na dlhodobé experimentálne použitie.

Organism Ľudské**Tissue** Mozog, pravý spánkový lalok**Disease** Glioblastóm**Synonyms** LN 18, LN18, LN018**Charakteristika****Age** 61 rokov**Gender** Muži**Ethnicity** Kaukazský**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** LN-18 (katalógové číslo Cytion 305822)

Bunky LN18 | 305822**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0392**Biomolekulárne údaje****Antigen expression** HLA A2, A9, B5, BW35, DRW3**Oncogenes** P53+ (mutovaný, mutácia TGT (Cys) --> TCT (Ser) na kodóne 238); PTEN+ (divoký typ); p16- (vymazaný); p14ARF- (vymazaný)**Tumorigenic** Áno; Áno, vytvára nádory u nahých myší**Mutational profile** Mutácia: Homozygotná. Mutácia, PIK3CB, Simple, p.Glu1051Lys (c.3151G>A), homozygotná, TP53, Simple, p.Cys238Ser (c.713G>C), homozygotná**Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplňte médium o 5 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 72 hodín**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky LN18 | 305822**Thawing and
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky LN18 | 305822

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.