

## Celice LN18 | 305822

## Splošne informacije

## Description

LN-18 je človeška celična linija malignega glioma, ki je bila prvotno pridobljena iz tumorja temporalnega režnja odraslega moškega bolnika z diagnozo multifornega glioblastoma (Kernohanova stopnja IV). Linija je bila vzpostavljena in vitro in je bila v enoslojni kulturi ohranjena več kot 115 prehodov. Celice LN-18 imajo bipolarno ali stelatno morfolgijo s pleomorfniimi jedri in se podvojijo v približno 72 urah. Čeprav so zgodnje kulture in biopsijski material izražali glialni fibrilarni kisli protein (GFAP), sinteze GFAP v kasnejših fazah niso opazili. Vendar je bil glialni izvor celic potrjen z ultrastrukturno analizo. Celice LN-18 so na svoji površini pokazale tudi prisotnost la podobnih antigenov in so bile sposobne sintetizirati visoke ravni fibronektina, kar je pomembno za patologijo glioma in interakcije med tumorjem in gostiteljem.

Kar zadeva tumorogenost, so celice LN-18 sposobne tvoriti solidne tumorje, ko jih vbrzgaajo golim mišim, nastali tumorji pa so presadljivi in histološko podobni prvotnemu glioblastomu. Kariotipska analiza je razkrila prisotnost treh stalnih označevalnih kromosomov, kar zagotavlja citogenetski prstni odtis celične linije. Kljub temu, da v kasnejših fazah ni bilo zaznati beljakovin GFAP ali S-100, linija LN-18 ostaja dragocen model za preučevanje biologije človeškega glioma, zlasti v zvezi z izražanjem površinskih antigenov celic, tumorogenostjo in interakcijami zunajceličnega matriksa s proizvodnjo fibronektina. Celična linija ima tudi stabilne značilnosti rasti in je primerna za kriokonzervacijo, zaradi česar je primerna za dolgoročno eksperimentalno uporabo.

**Organism** Človek

**Tissue** Možgani, desni temporalni lobus

**Disease** Glioblastom

**Synonyms** LN 18, LN18, LN018

## Značilnosti

**Age** 61 let

**Gender** Moški

**Ethnicity** Kavkaški

**Growth properties** Pripadajoče

## Regulativni podatki

**Citation** LN-18 (Cytionova kataloška številka 305822)

## Celice LN18 | 305822

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0392**Biomolekularni podatki****Antigen expression** HLA A2, A9, B5, BW35, DRW3**Oncogenes** P53+ (mutiran, mutacija TGT (Cys) --> TCT (Ser) na kodonu 238); PTEN+ (divjji tip); p16- (izbrisan); p14ARF- (izbrisan)**Tumorigenic** Da; Da, tvori tumorje pri golih miših**Mutational profile** Mutacija: CDKN2A, homozigotna. Mutacija, PIK3CB, enostavna, p.Glu1051Lys (c.3151G>A), homozigotna, TP53, enostavna, p.Cys238Ser (c.713G>C), homozigotna**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite s 5 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 72 ur**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

## Celice LN18 | 305822

### Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri  $300 \times g$  3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , vlažno ozračje.

### Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

## Celice LN18 | 305822

### Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Shranjevanje pri  $-80^{\circ}\text{C}$  je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

## Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

### Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.