

Cellules LN18 | 305822

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire LN-18 est une lignée de cellules de gliome malin humain issue à l'origine d'une tumeur du lobe temporal d'un patient adulte de sexe masculin chez qui un glioblastome multiforme (grade IV selon l'échelle de Kernohan) avait été diagnostiqué. La lignée a été établie in vitro et a été maintenue pendant plus de 115 passages en culture monocouche. Les cellules LN-18 présentent des morphologies bipolaires ou étoilées avec des noyaux pléomorphes et ont un temps de doublement d'environ 72 heures. Bien que les premières cultures et le matériel de biopsie aient exprimé la protéine acide fibrillaire gliale (GFAP), aucune synthèse de GFAP n'a été observée lors des passages ultérieurs. Toutefois, l'origine gliale des cellules a été confirmée par analyse ultrastructurale. Les cellules LN-18 présentaient également des antigènes de type Ia à leur surface et étaient capables de synthétiser des niveaux élevés de fibronectine, deux caractéristiques pertinentes pour la pathologie du gliome et les interactions entre la tumeur et l'hôte.

En termes de tumorigénicité, les cellules LN-18 sont capables de former des tumeurs solides lorsqu'elles sont injectées à des souris nues; les tumeurs qui en résultent sont transplantables et histologiquement similaires au glioblastome d'origine. L'analyse caryotypique a révélé la présence de trois chromosomes marqueurs constants, fournissant ainsi une empreinte cytogénétique à la lignée cellulaire. Malgré l'absence de protéines GFAP ou S-100 détectables lors des passages ultérieurs, la lignée LN-18 demeure un modèle précieux pour l'étude de la biologie du gliome humain, notamment en ce qui concerne l'expression des antigènes de surface cellulaire, la tumorigénicité et les interactions avec la matrice extracellulaire par le biais de la production de fibronectine. La lignée cellulaire présente également des caractéristiques de croissance stables et se prête à la cryoconservation, ce qui la rend appropriée pour une utilisation expérimentale à long terme.

Organism Humain

Tissue Cerveau, lobe temporal droit

Disease Glioblastome

Synonyms LN 18, LN18, LN018

Caractéristiques

Age 61 ans

Gender Homme

Ethnicity caucasien

Growth properties Adepte

Données réglementaires

Cellules LN18 | 305822

Citation LN-18 (numéro de catalogue Cytion 305822)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0392

Données biomoléculaires

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

Oncogenes P53+ (muté, mutation TGT (Cys) → TCT (Ser) au codon 238); PTEN+ (type sauvage); p16- (délégué); p14ARF- (délégué)

Tumorigenic Oui; Oui, provoque l'apparition de tumeurs chez les souris nues

Mutational profile Mutation : délétion génique, CDKN2A, homozygote. Mutation, PIK3CB, simple, p.Glu1051Lys (c.3151G>A), homozygote, TP53, simple, p.Cys238Ser (c.713G>C), homozygote

Manipulation

Culture Medium DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de NaHCO₃, p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)

Supplements Ajouter 5 % de FBS au milieu de culture

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 72 heures

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules LN18 | 305822

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5 % de CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C . L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.