

Клетки A172 | 300108

Обща информация

Description

A-172 (A172 или A-172 MG) е важна клетъчна линия, използвана в неврологичните изследвания. Тя произхожда от мозъчната тъкан на 53-годишен мъж с глиобластом - вид рак на мозъка. Тези клетки прилепват и се разпространяват по повърхността на блюдата за култивиране, като кариотипът им е $n = 80$ (80 хромозоми). Клетките A-172 са хипертриплоидни, с над 20 маркерни хромозоми. Доказано е, че те не са туморогенни при третирани с антитимоцитен серум мишки от NIH Swiss. Клетките A-172 имат профил на генна експресия, който подчертава мезенхимната им линия и участието им в ангиогенезата.

Те експресират гени, свързани с мезенхимни маркери (CD90, CD105, протеин за активиране на фибробластите, тенасцин C) и индуктори на ангиогенезата (VEGF, FGF2 (b), TGFb1, тромбоспондин-1). Сравненията с клетъчната линия T98G разкриват разлики в морфологията и експресията на повърхностните маркери. И двете клетъчни линии показват висока експресия на $\alpha 2$ гладкомускулен актин. Промяната на концентрацията на феталния серум в хранителната среда влияе върху дела на клетките, експресиращи специфични повърхностни антигени, като CD73 и CD105.

Клетъчните линии A-172 и T98G точно представят глиобластомите, като предоставят ценни инструменти за изучаване на този мозъчен тумор. Техните профили на генна експресия и морфологични характеристики позволяват да се изследват молекулярните механизми, които са в основата на развитието и прогресията на глиобластома. Изследователите могат да използват клетките A-172, за да придобият представа за биологията на глиобластома и потенциално да идентифицират нови терапевтични цели за това опустошително заболяване.

Organism Човек

Tissue Мозък

Disease Глиобластом

Metastatic site Място на първичния тумор (мозък)

Applications Изследвания върху глиобластомата; биология на мезенхимния ГБМ; проучвания върху ангиогенезата, свързана с VEGF/FGF/TGF- β ; инвазия и миграция на глиомите; моделиране на ГБМ с див тип IDH1; тестове за лекарствена чувствителност; модели с ксенографти

Synonyms A-172, A 172, A-172 MG, A-172MG

Характеристики

Age 53 години

Gender Мъжки

Ethnicity Кавказки

Клетки A172 | 300108

Morphology Епителиоподобен (глиом)

Cell type Глиални клетки

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation A172 (каталожен номер 300108 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0131

GMO Status Без генетична модификация; линия GBM от див тип с див тип IDH1 и фенотип MSS

Биомолекуларни данни

Ploidy status Анеуплоидни

MSI-status Стабилен (MSS)

Mutational profile Няма мутация на IDH1

Работа с

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 40 часа

Клетки A172 | 300108

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Split ratio от 1 до 5

Seeding density 1×10^4 клетки/cm² ще доведе до конфлуентен монослой в рамките на 3 дни.

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Post-Thaw Recovery След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 4×10^4 клетки/cm² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 до 48 часа.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки A172 | 300108

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки A172 | 300108

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

HLA алели

A*: '01:01:01, '03:01:01
B*: '07:02:01, '08:01:01
C*: '07:01:01, '07:02:01
DRB1*: '03:01, '11:01
DQA1*: '05:01:01, '05:05:01
DQB1*: '02:01, '03:01
DPB1*: '02:01:02G, '04:02:01G
E: '01:01, '01:03