

**A172 Buňky | 300108****Obecné informace****Description**

A-172 (A172 nebo A-172 MG) je významná buněčná linie používaná v neurovědním výzkumu. Pochází z mozkové tkáně 53letého muže s glioblastomem, což je typ rakoviny mozku. Tyto buňky přiléhají a šíří se na povrchu kultivačních misek, jejich karyotyp je  $n = 80$  (80 chromozomů). Buňky A-172 jsou hypertriploidní a vykazují více než 20 markerových chromozomů. Bylo prokázáno, že u myši NIH Swiss, kterým bylo podáno antithymocytární sérum, nejsou nádorové. Buňky A-172 mají profil genové exprese, který zdůrazňuje jejich mezenchymální linii a zapojení do angiogeneze.

Exprimují geny související s mezenchymálními markery (CD90, CD105, fibroblastový aktivační protein, tenascin C) a induktory angiogeneze (VEGF, FGF2(b), TGF $\beta$ 1, trombospondin-1). Srovnání s buněčnou linií T98G ukazuje rozdíly v morfologii a expresi povrchových markerů. Obě buněčné linie vykazují vysokou expresi  $\alpha$ 2 hladkosvalového aktinu. Změna koncentrace fetálního séra v kultivačním médiu ovlivňuje podíl buněk exprimujících specifické povrchové antigeny, jako jsou CD73 a CD105.

Buněčné linie A-172 a T98G přesně reprezentují glioblastomy a poskytují cenné nástroje pro studium tohoto mozkového nádoru. Jejich profily genové exprese a morfologické vlastnosti umožňují zkoumat molekulární mechanismy, které jsou základem vývoje a progresu glioblastomu. Vědci mohou využít buňky A-172 k získání poznatků o biologii glioblastomu a potenciálně identifikovat nové terapeutické cíle pro toto devastující onemocnění.

**Organism** Člověk**Tissue** Mozek**Disease** Glioblastom**Metastatic site** Primary tumor site (brain)**Applications** Glioblastoma research; mesenchymal GBM biology; VEGF/FGF/TGF- $\beta$  angiogenesis studies; glioma invasion and migration; IDH1 wild-type GBM modeling; drug sensitivity assays; xenograft models**Synonyms** A-172, A 172, A-172 MG, A-172MG**Charakteristika****Age** 53 let**Gender** Muži**Ethnicity** Kavkazský**Morphology** Epithelial-like (glioma)

**A172 Buňky | 300108****Cell type** Glial cells**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje****Citation** A172 (katalogové číslo Cytion 300108)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0131**GMO Status** No genetic modification; wildtype GBM line with IDH1 wild-type status and MSS phenotype**Biomolekulární data****Ploidy status** Aneuploidní**MSI-status** Stabilní (MSS)**Mutational profile** Nemá mutaci IDH1**Zpracování****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplňte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 40 hodin

## A172 Buňky | 300108

<b>Subculturing</b>	Odstraňte staré médium z adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
<b>Split ratio</b>	Doporučuje se poměr 1:3 až 1:8
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ buněk/cm <sup>2</sup> vytvoří do 3 dnů konfluentní monovrstvu.
<b>Fluid renewal</b>	2 až 3krát týdně
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Po rozmrazení naneste buňky v množství $4 \times 10^4$ buněk/cm <sup>2</sup> a nechte je zotavit se z procesu zmrazení a přilnout po dobu nejméně 24 až 48 hodin.
<b>Freeze medium</b>	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryem.

**A172 Buňky | 300108****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation  
Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating**

Žádný

**Freezing  
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping  
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**A172 Buňky | 300108****Storage  
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

**Kontrola kvality / Genetický profil / HLA****Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

**Profil STR**

**Amelogenin:** x,y

**CSF1PO:** 9,12

**D13S317:** 11

**D16S539:** 12

**D5S818:** 11,12

**D7S820:** 11

**TH01:** 6,9,3

**TPOX:** 8,11

**vWA:** 20

**D3S1358:** 14,18

**D21S11:** 28,32.2

**D18S51:** 12,13

**Penta E:** 5,1

**Penta D:** 9,13

**D8S1179:** 13,14

**FGA:** 20,22

**D1S1656:** 12,14

**D6S1043:** 13,18

**D2S1338:** 20,21

**D12S391:** 22

**D19S433:** 12,15.2

**Alely HLA**

**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