

A172 Rakud | 300108

Üldine teave

Description

A-172 (A172 või A-172 MG) on oluline rakuliin, mida kasutatakse neuroteaduslikes uuringutes. See pärineb 53-aastase glioblastoomi (üks ajuvähi tüüp) põdeva mehe ajukoest. Need rakud kleepuvad ja levivad kultuurnõu pinnal, nende karyotüüp on $n = 80$ (80 kromosoomi). A-172 rakud on hüpertriploidsed, millel on üle 20 markerkromosoomi. On näidatud, et nad ei ole tuumorigeensed tümotsüütide vastase seerumiga ravitud NIH Swiss hiirtel. A-172 rakkudel on geeniekspressiooniprofiil, mis rõhutab nende mesenhüümset päritolu ja osalemist angiogeneesis.

Nad ekspresseerivad mesenhüümsete markerite (CD90, CD105, fibroblastide aktiveerimisvalk, tenascin C) ja angiogeneesi indutseerivate geenide (VEGF, FGF2(b), TGF β 1, trombospondiin-1) geenid. Võrreldes T98G rakuliiniga ilmnevad erinevused morfoloogias ja pinnamarkerite ekspressioonis. Mõlemal rakuliinil on kõrge $\alpha 2$ silelihasaktiini ekspressioon. Loote seerumi kontsentratsiooni muutmine kasvukeskkonnas mõjutab spetsiifilisi pinnaantigene, nagu CD73 ja CD105, ekspresseerivate rakkude osakaalu.

A-172 ja T98G rakuliinid esindavad täpselt glioblastoomi, pakkudes väärtuslikke vahendeid selle ajukasvaja uurimiseks. Nende geeniekspressiooniprofiilid ja morfoloogilised omadused võimaldavad uurida glioblastoomi arengu ja progresseerumise aluseks olevaid molekulaarseid mehhanisme. Teadlased saavad kasutada A-172 rakke, et saada teadmisi glioblastoomi bioloogiast ja potentsiaalselt leida uusi ravieesmarke selle laastava haiguse raviks.

Organism

Inimene

Tissue

Aju

Disease

Glioblastoom

Metastatic site

Esmane kasvaja asukoht (aju)

Applications

Glioblastoomi uurimine; mesenkhüümse GBM bioloogia; VEGF/FGF/TGF- β angiogeneesi uuringud; glioomi invasiivsus ja migratsioon; IDH1-tüüpi GBM modelleerimine; ravimite tundlikkuse testid; ksenotransplantaadi mudelid

Synonyms

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

Omadused

Age

53 aastat

Gender

Mees

Ethnicity

Kaukaasia

A172 Rakud | 300108**Morphology** Epiteelilaadne (glioom)**Cell type** Glial rakud**Growth properties** Kinnipeetav**Regulatiivsed andmed****Citation** A172 (Cytioni katalooginumber 300108)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0131**GMO Status** Geneetiliselt muundamata; loodusliku tüüpi GBM-rakuliin, millel on IDH1 looduslik tüüp ja MSS-fenotüüp**Biomolekulaarsed andmed****Ploidy status** Aneuploidne**MSI-status** Stabiilne (MSS)**Mutational profile** Ei ole IDH1 mutatsiooni**Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 40 tundi

A172 Rakud | 300108

Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Split ratio	1-5
Seeding density	1×10^4 rakku/cm ² annab 3 päeva jooksul konfluentse monokihi.
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Post-Thaw Recovery	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 4×10^4 rakku/cm ² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24-48 tunni jooksul.
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

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

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

A172 Rakud | 300108

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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