

## A172 Solut | 300108

## Yleisiä tietoja

## Description

A-172 (A172 tai A-172 MG) on merkittävä neurotieteellisessä tutkimuksessa käytetty solulinja. Se on peräisin 53-vuotiaan miehen aivokudoksesta, jolla oli glioblastooma, eräs aivosyöpätyyppi. Nämä solut tarttuvat ja leviävät viljelymaljojen pinnalle, ja niiden karyotyyppi on  $n = 80$  (80 kromosomia). A-172-solut ovat hypertriploideja, ja niissä on yli 20 merkkikromosomia. Niiden on osoitettu olevan kasvaimia aiheuttamattomia tymosyyttiseerumilla hoidetuissa NIH Swiss -hiirissä. A-172-solujen geeniekspressioprofiili korostaa niiden mesenkymaalista linjaa ja osallistumista angiogeneesiin.

Ne ilmentävät geenejä, jotka liittyvät mesenkymaalisiin merkkiaineisiin (CD90, CD105, fibroblastien aktivoitumisproteiini, tenaskiini C) ja angiogeneesiä indusoiviin tekijöihin (VEGF, FGF2(b), TGF $\beta$ 1, trombospondiini-1). Vertailu T98G-solulinjaan paljastaa eroja morfologiassa ja pintamarkkerien ilmentymisessä. Molemmissa solulinjoissa esiintyy runsaasti sileän lihaksen  $\alpha$ 2-aktiinin ilmentymistä. Sikiöseerumin pitoisuuden muuttaminen kasvatusmediumissa vaikuttaa tiettyjen pinta-antigeenejä, kuten CD73:a ja CD105:tä, ilmentävien solujen osuuteen.

A-172- ja T98G-solulinjat edustavat tarkasti glioblastoomia ja tarjoavat arvokkaita välineitä tämän aivokasvaimen tutkimiseen. Niiden geeniekspressioprofiilien ja morfologisten ominaisuuksien avulla voidaan tutkia glioblastooman kehittymisen ja etenemisen taustalla olevia molekyylimekanismeja. Tutkijat voivat käyttää A-172-soluja saadakseen tietoa glioblastooman biologiasta ja mahdollisesti löytää uusia terapeuttisia kohteita tälle tuhoisalle taudille.

**Organism** Ihminen

**Tissue** Aivot

**Disease** Glioblastooma

**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, A-172MG

## Ominaisuudet

**Age** 53 vuotta

**Gender** Mies

**Ethnicity** Kaukasialainen

## A172 Solut | 300108

**Morphology** Epithelial-like (glioma)

**Cell type** Glial cells

**Growth properties** Tarttuva

## Säätelytiedot

**Citation** A172 (Cytionin luettelonumero 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

## Biomolekyyli tiedot

**Ploidy status** Aneuploidinen

**MSI-status** Vakaa (MSS)

**Mutational profile** Ei IDH1-mutaatiota

## Käsittely

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 40 tuntia

**A172 Solut | 300108**

**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

**Split ratio** 1 to 5

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  solua/cm<sup>2</sup> tuottaa konfluenttisen monokerroksen 3 päivän kuluessa.

**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa

**Post-Thaw Recovery** Sulattamisen jälkeen levitä solut  $4 \times 10^4$  solua/cm<sup>2</sup> ja anna solujen toipua jäädyttämisprosessista ja kiinnittyä vähintään 24-48 tunnin ajan.

**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

## A172 Solut | 300108

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta  $300 \times g$ :n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Ei mitään

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ :ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ :ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## A172 Solut | 300108

### Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

### HLA-alleelit

**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