Product sheet

A172 Sejtek | 300108

Általános információk

Description	Az A-172 (A172 vagy A-172 MG) az idegtudományi kutatásokban használt jelentős sejtvonal. Egy 53 éves, glioblasztómában, az agydaganat egyik típusában szenvedő férfi agyszövetéből származik. Ezek a sejtek a tenyészcsészék felszínén tapadnak és terjednek, kariotípusuk n = 80 (80 kromoszóma). Az A-172 sejtek hipertriploidok, több mint 20 marker kromoszómát mutatnak. A timocitaellenes szérummal kezelt NIH Swiss egerekben nem bizonyultak tumorogénnek. Az A-172 sejtek génexpressziós profilja kiemeli a mesenchymális vonalukat és az angiogenezisben való részvételüket. Mesenchymális markerekkel (CD90, CD105, fibroblaszt aktivációs protein, tenaszcin C) és angiogenezist indukáló génekkel (VEGF, FGF2(b), TGFb1, tromboszpondin-1) kapcsolatos géneket fejeznek ki. A T98G sejtvonallal való összehasonlítás különbséget mutat a morfológiában és a felszíni markerek expressziójában. Mindkét sejtvonal az a2 simaizomaktin magas expresszióját mutatja. A magzati szérum koncentrációjának megváltoztatása a táptalajban befolyásolja a specifikus felszíni antigéneket, például a CD73-at és a CD105-öt expresszáló sejtek arányát. Az A-172 és a T98G sejtvonalak pontosan reprezentálják a glioblasztómákat, értékes eszközöket biztosítva ezen agydaganat tanulmányozásához. Génexpressziós profiljuk és morfológiai jellemzőik lehetővé teszik a glioblasztóma kialakulásának és progressziójának hátterében álló molekuláris mechanizmusok vizsgálatát. A kutatók az A-172 sejtek segítségével betekintést nyerhetnek a glioblasztóma biológiájába, és potenciálisan új terápiás célpontokat azonosíthatnak e pusztító betegséggel kapcsolatban.
Organism	Emberi
Tissue	Agy
Disease	Glioblastoma
Metastatic site	Az elsődleges daganat helye (agy)
Applications	Glioblastoma-kutatás; a mezenchimális GBM biológiája; VEGF/FGF/TGF-β angiogenezisre vonatkozó vizsgálatok; glióma inváziója és migrációja; IDH1 vad típusú GBM modellezése; gyógyszerérzékenységi vizsgálatok; xenotranszplantátum-modellek
Synonyms	A-172, A 172, A-172 MG, A-172MG

Jellemzők

Age	53 év
Gender	Férfi
Ethnicity	Kaukázusi

A172 Sejtek | 300108

Morphology	Hámsejtszerű (glióma)
Cell type	Gliasejtek
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

Citation	A172 (Cytion katalógusszám: 300108)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0131
GMO Status	Nincs genetikai módosítás; vad típusú GBM-vonal, amelynek IDH1-je vad típusú, és MSS fenotípussal rendelkezik

Biomolekuláris adatok

Ploidy status	Aneuploid
MSI-status	Stabil (MSS)
Mutational profile	Nincs IDH1 mutáció

A kezelése

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	40 óra

A172 Sejtek | 300108

Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Split ratio	1–5
Seeding density	1 x 10^4 sejt/cm^2 3 napon belül konfluens monoréteget eredményez.
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Post-Thaw Recovery	Felolvasztás után helyezze a sejteket 4 x 10^4 sejt/cm^2 sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felépüljenek a fagyasztási folyamatból, és legalább 24–48 órán át tapadjanak.
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

A172 Sejtek | 300108

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.
HLA allélok	**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