

## A172 ląstelės | 300108

## Bendra informacija

## Description

A-172 (A172 arba A-172 MG) yra svarbi ląstelių linija, naudojama neurobiologiniuose tyrimuose. Ji buvo gauta iš 53 metų vyro, sergančio glioblastoma, smegenų vėžio rūšimi, smegenų audinio. Šios ląstelės prilimpa ir plinta ant kultūrų lėkštelių paviršiaus, jų kariotipas  $n = 80$  (80 chromosomų). A-172 ląstelės yra hipertriploidinės, jose yra daugiau kaip 20 žyminių chromosomų. Įrodyta, kad jos nėra navikinės antitimosocitiniu serumu apdorotoms NIH Šveicarijos pelėms. A-172 ląstelės turi genų raiškos profilį, kuris rodo jų mezenchiminę liniją ir dalyvavimą angiogenezėje.

Jos ekspresuoja genus, susijusius su mezenchiminiais žymenimis (CD90, CD105, fibroblastų aktyvacijos baltymu, tenascin C) ir angiogenezės induktoriais (VEGF, FGF2 (b), TGF $\beta$ 1, trombospondinu-1). Palyginus su T98G ląstelių linija, nustatyti morfologijos ir paviršiaus žymenų raiškos skirtumai. Abiejose ląstelių linijose pastebima didelė a2 lygiųjų raumenų aktino raiška. Fetalinio serumo koncentracijos keitimas mitybinėje terpėje turi įtakos ląstelių, išreiškiančių specifinius paviršiaus antigenus, pavyzdžiui, CD73 ir CD105, daliai.

A-172 ir T98G ląstelių linijos tiksliai atspindi glioblastomas, todėl yra vertingos priemonės šiam smegenų navikui tirti. Jų genų raiškos profiliai ir morfologiniai bruožai leidžia tirti glioblastomos vystymąsi ir progresavimą lemiančius molekulinis mechanizmus. Mokslininkai gali naudoti A-172 ląsteles, siekdami geriau pažinti glioblastomos biologiją ir galimai nustatyti naujus šios pražūtingos ligos gydymo taikinius.

**Organism** Žmogus

**Tissue** Smegenys

**Disease** Glioblastoma

**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

## Charakteristikos

**Age** 53 metai

**Gender** Vyras

**Ethnicity** Kaukaziečių

**Morphology** Epithelial-like (glioma)

**A172 ląstelės | 300108****Cell type** Glial cells**Growth properties** Prigludęs**Reguliavimo duomenys****Citation** A172 (Cytion katalogo numeris 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**Biomolekuliniai duomenys****Ploidy status** Aneuploidinis**MSI-status** Stabilus (MSS)**Mutational profile** Neturi IDH1 mutacijos**Tvarkymas****Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 40 valandų

## A172 ląstelės | 300108

**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

**Split ratio** 1 to 5

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  ląstelės/cm<sup>2</sup> per 3 dienas suformuos konfluentinį monosluoksni.

**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę

**Post-Thaw Recovery** Atšildžius, išdėliokite ląsteles  $4 \times 10^4$  ląstelių/cm<sup>2</sup> tankumu ir leiskite ląstelėms atsigausti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24–48 valandas.

**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

## A172 ląstelės | 300108

### Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

### Flask Coating

Nėra

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## A172 ląstelės | 300108

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

### HLA aleliai

**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