

## A172 Šūnas | 300108

## Vispārīga informācija

## Description

A-172 (A172 vai A-172 MG) ir nozīmīga šūnu līnija, ko izmanto neirozinātnes pētījumos. Tā iegūta no 53 gadus veca vīrieša smadzeņu audiem, kurš slimoja ar glioblastomu - smadzeņu vēža veidu. Šīm šūnām ir n = 80 (80 hromosomu) kariotips, un tās pieguļ un izplatās uz kultūras trauciņu virsmas. A-172 šūnas ir hipertriploīdas, tām ir vairāk nekā 20 marķieru hromosomu. Ir pierādīts, ka tās nav tumorogēnas pret timocītu serumu apstrādātām NIH Šveices pelēm. A-172 šūnām ir gēnu ekspresijas profils, kas norāda uz to mezenhimālo līniju un iesaistīšanos angiogēnēzē.

Tās ekspresē gēnus, kas saistīti ar mezenhīma marķieriem (CD90, CD105, fibroblastu aktivācijas proteīns, tenascīns C) un angiogēzes induktoriem (VEGF, FGF2 (b), TGFb1, trombospondīns-1). Salīdzinot ar T98G šūnu līniju, atklājas atšķirības morfoloģijā un virsmas marķieru ekspresijā. Abām šūnu līnijām ir augsta a2 gludās muskulatūras aktīva ekspresija. Augļa seruma koncentrācijas maiņa barotnē ietekmē to šūnu īpatsvaru, kas ekspresē specifiskus virsmas antigēnus, piemēram, CD73 un CD105.

A-172 un T98G šūnu līnijas precīzi pārstāv glioblastomas, nodrošinot vērtīgus instrumentus šī smadzeņu audzēja izpētei. To gēnu ekspresijas profili un morfoloģiskās īpašības ļauj pētīt glioblastomas attīstības un progresēšanas molekulāros mehānismus. Pētnieki var izmantot A-172 šūnas, lai gūtu ieskatu glioblastomas bioloģijā un, iespējams, noteiktu jaunus terapeitiskos mērķus šīs postošās slimības ārstēšanā.

**Organism** Cilvēks

**Tissue** Smadzenes

**Disease** Glioblastoma

**Metastatic site** Primary tumor site (brain)

**Applications** Glioblastoma research; mesenchymal GBM biology; VEGF/FGF/TGF-β 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

## Raksturojums

**Age** 53 gadi

**Gender** Vīrieši

**Ethnicity** Kaukāzietis

**Morphology** Epithelial-like (glioma)

## A172 Šūnas | 300108

<b>Cell type</b>	Glial cells
------------------	-------------

<b>Growth properties</b>	Adherent
--------------------------	----------

## Normatīvie dati

<b>Citation</b>	A172 (Cytion kataloga numurs 300108)
-----------------	--------------------------------------

<b>Biosafety level</b>	1
------------------------	---

<b>NCBI_TaxID</b>	9606
-------------------	------

<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0131
-----------------------------	-----------

<b>GMO Status</b>	No genetic modification; wildtype GBM line with IDH1 wild-type status and MSS phenotype
-------------------	---

## Biomolekulārie dati

<b>Ploidy status</b>	Aneuploīds
----------------------	------------

<b>MSI-status</b>	Stabils (MSS)
-------------------	---------------

<b>Mutational profile</b>	Nav IDH1 mutācijas
---------------------------	--------------------

## Darbs ar

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
-----------------------	---

<b>Supplements</b>	Papildināt barotni ar 10% FBS
--------------------	-------------------------------

<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
-----------------------------	----------

<b>Doubling time</b>	40 stundas
----------------------	------------

## A172 Šūnas | 300108

<b>Subculturing</b>	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
<b>Split ratio</b>	1 to 5
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ šūnas/cm <sup>2</sup> 3 dienu laikā izveidos konfluentu monoslāni.
<b>Fluid renewal</b>	2 līdz 3 reizes nedēļā
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu $4 \times 10^4$ šūnas/cm <sup>2</sup> un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 līdz 48 stundas.
<b>Freeze medium</b>	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

## A172 Šūnas | 300108

### Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to  $37^{\circ}\text{C}$  ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar  $300 \times g$  3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

### Flask Coating

Neviens

### Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

## A172 Šūnas | 300108

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

### HLA alēles

**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