

A172 Komórki | 300108**Informacje ogólne****Description**

A-172 (A172 lub A-172 MG) to znacząca linia komórkowa wykorzystywana w badaniach neurobiologicznych. Pochodzi ona z tkanki mózgowej 53-letniego mężczyzny z glejakiem, rodzajem raka mózgu. Komórki te przylegają i rozprzestrzeniają się na powierzchni naczyń hodowlanych, z kariotypem $n = 80$ (80 chromosomów). Komórki A-172 są hipertriploidalne, wykazując ponad 20 chromosomów markerowych. Wykazano, że są one nienowotworowe u myszy NIH Swiss poddanych działaniu surowicy antytymocytarnej. Komórki A-172 mają profil ekspresji genów, który podkreśla ich linię mezenchymalną i zaangażowanie w angiogenezę.

Wyrażają geny związane z markerami mezenchymalnymi (CD90, CD105, białko aktywacji fibroblastów, tenascyna C) i induktorami angiogenezy (VEGF, FGF2 (b), TGFb1, trombospondyna-1). Porównanie z linią komórkową T98G ujawnia różnice w morfologii i ekspresji markerów powierzchniowych. Obie linie komórkowe wykazują wysoką ekspresję aktyny mięśni gładkich $\alpha 2$. Zmiana stężenia surowicy płodowej w pożywce hodowlanej wpływa na odsetek komórek wyrażających specyficzne antygeny powierzchniowe, takie jak CD73 i CD105.

Linie komórkowe A-172 i T98G dokładnie reprezentują glejaki, zapewniając cenne narzędzia do badania tego guza mózgu. Ich profile ekspresji genów i cechy morfologiczne pozwalają na badanie mechanizmów molekularnych leżących u podstaw rozwoju i progresji glejaka. Naukowcy mogą wykorzystać komórki A-172, aby uzyskać wgląd w biologię glejaka i potencjalnie zidentyfikować nowe cele terapeutyczne dla tej wyniszczającej choroby.

Organism Człowiek**Tissue** Mózg**Disease** Glejak wielopostaciowy**Metastatic site** Miejsce występowania guza pierwotnego (mózg)**Applications** Badania nad glejakiem wielopostaciowym; biologia glejaka wielopostaciowego o charakterze mezenchymalnym; badania nad angiogenezą z udziałem VEGF, FGF i TGF- β ; inwazja i migracja glejaka; modelowanie glejaka wielopostaciowego z genem IDH1 w typie dzikim; testy wrażliwości na leki; modele przeszczepów heterogenicznych**Synonyms** A-172, A 172, A-172 MG, A-172MG**Charakterystyka****Age** 53 lata**Gender** Mężczyzna**Ethnicity** Kaukaski

A172 Komórki | 300108**Morphology** Podobny do nabłonkowego (glejak)**Cell type** Komórki glejowe**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** A172 (numer katalogowy Cytion 300108)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0131**GMO Status** Bez modyfikacji genetycznych; linia GBM typu dzikiego o statusie dzikiego typu IDH1 i fenotypie MSS**Dane biomolekularne****Ploidy status** Aneuploid**MSI-status** Stabilny (MSS)**Mutational profile** Nie ma mutacji IDH1**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzuppełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 40 godzin

A172 Komórki | 300108

Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecane są proporcje od 1:3 do 1:8
Seeding density	1×10^4 komórek/cm ² spowoduje powstanie zlewającej się monowarstwy w ciągu 3 dni.
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 4×10^4 komórek/cm ² i pozostaw je na co najmniej 24 do 48 godzin, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć do podłoża.
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

A172 Komórki | 300108

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

A172 Komórki | 300108

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 9,12
D13S317: 11
D16S539: 12
D5S818: 11,12
D7S820: 11
TH01: 6,9,3
TPOX: 8,11
vWA: 20
D3S1358: 14,18
D21S11: 28,32.2
D18S51: 12,13
Penta E: 5,1
Penta D: 9,13
D8S1179: 13,14
FGA: 20,22
D1S1656: 12,14
D6S1043: 13,18
D2S1338: 20,21
D12S391: 22
D19S433: 12,15.2

A172 Komórki | 300108

Allele HLA

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