

A172 celice | 300108**Splošne informacije****Description**

A-172 (A172 ali A-172 MG) je pomembna celična linija, ki se uporablja v nevroznanstvenih raziskavah. Izvira iz možganskega tkiva 53-letnega moškega z glioblastomom, vrsto možganskega raka. Te celice se oprijemajo in širijo po površini posodic za gojenje, njihov kariotip pa je $n = 80$ (80 kromosomov). Celice A-172 so hipertriploidne in imajo več kot 20 označevalnih kromosomov. Pokazalo se je, da pri miših NIH Swiss, zdravljenih s serumom proti timocitom, niso tumorogene. Celice A-172 imajo profil izražanja genov, ki poudarja njihovo mezenhimsko linijo in vključenost v angiogenezo.

Izražajo gene, povezane z mezenhimskimi označevalci (CD90, CD105, protein za aktivacijo fibroblastov, tenascin C) in induktorji angiogeneze (VEGF, FGF2(b), TGFb1, trombospondin-1). Primerjave s celično linijo T98G kažejo razlike v morfologiji in izražanju površinskih označevalcev. Obe celični liniji kažeta visoko izražanje $\alpha 2$ gladkomišičnega aktina. Sprememba koncentracije fetalnega seruma v gojišču vpliva na delež celic, ki izražajo specifične površinske antigene, kot sta CD73 in CD105.

Celični liniji A-172 in T98G natančno predstavljata glioblastome in zagotavljata dragoceno orodje za preučevanje tega možganskega tumorja. Njuni profili izražanja genov in morfološke značilnosti omogočajo raziskave molekularnih mehanizmov, ki so podlaga za razvoj in napredovanje glioblastoma. Raziskovalci lahko celice A-172 uporabijo za vpogled v biologijo glioblastoma in morebitno opredelitev novih terapevtskih ciljev za to uničujočo bolezen.

Organism

Človek

Tissue

Možgani

Disease

Glioblastom

Metastatic site

Lokacija primarnega tumorja (možgani)

Applications

Raziskave glioblastoma; biologija mezenhimalnega GBM; študije angiogeneze VEGF/FGF/TGF- β ; invazija in migracija glioma; modeliranje GBM z divjim tipom IDH1; testi občutljivosti na zdravlila; modeli ksenotransplantatov

Synonyms

A-172, A 172, A-172 MG, A-172MG

Značilnosti**Age**

53 let

Gender

Moški

Ethnicity

Kavkaški

A172 celice | 300108**Morphology** Epitelijsko podoben (gliom)**Cell type** Glialne celice**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** A172 (katalogska številka Cytion 300108)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0131**GMO Status** Brez genske modifikacije; linija GBM divjega tipa z divjim tipom gena IDH1 in fenotipom MSS**Biomolekularni podatki****Ploidy status** Aneuploidni**MSI-status** Stabilno (MSS)**Mutational profile** Nima mutacije IDH1**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 40 ur

A172 celice | 300108

Subculturing	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
Split ratio	1 do 5
Seeding density	1×10^4 celic/cm ² bo v 3 dneh povzročilo konfluentno monosloj.
Fluid renewal	2 do 3-krat na teden
Post-Thaw Recovery	Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 4×10^4 celic/cm ² in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo za najmanj 24 do 48 ur.
Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

A172 celice | 300108**Thawing and
Culturing Cells**

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

**Freezing
Procedure**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

**Shipping
Conditions**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

A172 celice | 300108

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Aleli 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