

Клітини A172 | 300108

Загальна інформація

Description

A-172 (A172 або A-172 MG) - важлива клітинна лінія, що використовується в дослідженнях в галузі неврології. Вона походить з тканини головного мозку 53-річного чоловіка, хворого на гліобластоми, тип раку головного мозку. Ці клітини прилипають і поширюються на поверхні культурального посуду, мають каріотип n = 80 (80 хромосом). Клітини A-172 є гіпертриплоїдними, мають понад 20 маркерних хромосом. Було показано, що вони не є пухлиноутворюючими у швейцарських мишей NIH, які отримували антитимоцитарну сироватку. Клітини A-172 мають профіль експресії генів, який підкреслює їх мезенхімальне походження та участь в ангиогенезі.

Вони експресують гени, пов'язані з мезенхімальними маркерами (CD90, CD105, білок активації фібробластів, тенасцин C) та індукторами ангиогенезу (VEGF, FGF2 (b), TGFb1, тромбоспондин-1). Порівняння з клітинною лінією T98G виявляє відмінності в морфології та експресії поверхневих маркерів. Обидві клітинні лінії демонструють високу експресію актину гладеньких м'язів a2. Зміна концентрації фетальної сироватки в культуральному середовищі впливає на частку клітин, що експресують специфічні поверхневі антигени, такі як CD73 і CD105.

Клітинні лінії A-172 і T98G точно представляють гліобластоми, надаючи цінні інструменти для вивчення цієї пухлини головного мозку. Їхні профілі експресії генів та морфологічні особливості дозволяють досліджувати молекулярні механізми, що лежать в основі розвитку та прогресування гліобластоми. Дослідники можуть використовувати клітини A-172 для вивчення біології гліобластоми та потенційного визначення нових терапевтичних мішеней для лікування цього руйнівного захворювання.

Organism Людина

Tissue Мозок

Disease Гліобластома

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

Характеристики

Age 53 роки

Gender Чоловік

Ethnicity Кавказець

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Клітини A172 | 300108

Citation A172 (номер за каталогом Cytion 300108)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0131

Біомолекулярні дані

Ploidy status Анеуплоїдний

MSI-status Стабільний (MSS)

Mutational profile Не має мутації IDH1

Обробка

Culture Medium ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO₃, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)

Supplements Додайте до середовища 10% FBS

Dissociation Reagent Аккутаза

Doubling time 40 годин

Subculturing Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Seeding density 1×10^4 клітин/см² призведе до утворення конфлюентного моношару протягом 3 днів.

Fluid renewal 2-3 рази на тиждень

Клітини A172 | 300108

Post-Thaw Recovery

Після розморожування висійте клітини з щільністю 4×10^4 клітин/ cm^2 і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24–48 годин.

Freeze medium

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Клітини A172 | 300108

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA**Sterility**

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

HLA алелі

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