

A704 Клетки | 300217

Обща информация

Description

A-704 е човешка епителна клетъчна линия, получена от бъбречна тъкан на 78-годишен пациент с аденокарцином. Тази клетъчна линия има епителна морфология. Тя е ценен ресурс в изследванията на рака, особено за изучаване на аденокарцинома. A-704 е универсална клетъчна линия с приложение в 3D клетъчни култури и като носител на трансфекция.

Произведена от D.J. Giard, A-704 поддържа последователност и надеждност в експерименталните условия. Анализът на кариотипа разкрива, че клетките на A-704 показват аномалии като прекъсвания, дицентрици и ендоредупликация, вариращи от диплоидни до хипердиплоидни, хипертриплоидни до хипертраплоидни.

Въпреки че не са туморогенни при имunosупресирани мишки, клетките A-704 могат да образуват колонии в полутвърда среда. Клетките A-704 показват специфични изоензимни профили, включително AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 и PGM3.

Organism Човек

Tissue Бъбреци

Disease Аденокарцином

Synonyms A.704, A-704

Характеристики

Age 78 години

Gender Мъжки

Ethnicity Кавказки

Morphology Подобни на епител

Growth properties Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation A704 (каталожен номер 300217 на Cytion)

Biosafety level 1

A704 Клетки | 300217

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1065

Биомолекулярни данни

Isoenzymes Me-2, 1, PGM3, 1-2, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 2, G6PD, B

Tumorigenic Не

Karyotype (P59) диплоиден до хипердиплоиден, хипертриплоиден до хипертетраплоиден с аномалии, включително прекръсвания, дицентрици и ендоредупликация

Работа с

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Seeding density 1×10^4 клетки/cm² ще доведе до конфлуентен монослой в рамките на 4 дни.

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Post-Thaw Recovery След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/cm² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

A704 Клетки | 300217

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

A704 Клетки | 300217

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

HLA алели

A*: '34:02:01, '74:01:01

B*: '35:01:01, '44:03:01

C*: '04:01:01

DRB1*: '15:03:01G

DQA1*: '01:02:01

DQB1*: '06:02:01

DPB1*: '02:01:19, '04:02:01G

E: '01:01:01, '01:03