

**A704 Buňky | 300217****Obecné informace****Description**

A-704 je lidská epiteliální buněčná linie odvozená z ledvinové tkáně 78letého pacienta s adenokarcinomem. Tato buněčná linie vykazuje epiteliální morfologii. Je cenným zdrojem pro výzkum rakoviny, zejména pro studium adenokarcinomu. A-704 je všestranná buněčná linie s využitím v 3D buněčných kulturách a jako hostitel transfekce.

Linka A-704, kterou odvodil D. J. Giard, si zachovává konzistenci a spolehlivost v experimentálních podmínkách. Karyotypová analýza ukazuje, že buňky A-704 vykazují abnormality, jako jsou zlomy, dicentrika a endoreduplikace, od diploidních po hyperdiploidní, hypertriploidní až po hypertetraploidní.

Ačkoli buňky A-704 nejsou u imunosuprimovaných myší nádorové, mohou vytvářet kolonie v polotuhém médiu. Buňky A-704 vykazují specifické izoenzymové profily, včetně AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 a PGM3.

**Organism** Člověk**Tissue** Ledviny**Disease** Adenokarcinom**Synonyms** A.704, A-704**Charakteristika****Age** 78 let**Gender** Muži**Ethnicity** Kavkazský**Morphology** Epitelu podobné**Growth properties** Monovrstva, adherentní**Regulační údaje****Citation** A704 (katalogové číslo Cytion 300217)**Biosafety level** 1

**A704 Buňky | 300217****NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1065**Biomolekulární data****Isoenzymes** Me-2, 1, PGM3, 1-2, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 2, G6PD, B**Tumorigenic** Ne**Karyotype** (P59) diploidní až hyperdiploidní, hypertriploidní až hypertetraploidní s abnormalitami včetně zlomů, dicentrik a endoreduplikace**Zpracování****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:3 až 1:4**Seeding density**  $1 \times 10^4$  buněk/cm<sup>2</sup> vytvoří konfluentní monovrstvu během 4 dnů.**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste buňky v množství  $5 \times 10^4$  buněk/cm<sup>2</sup> a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.

## A704 Buňky | 300217

### Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

### Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Žádný

### Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**A704 Buňky | 300217****Shipping  
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage  
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

**Kontrola kvality / Genetický profil / HLA****Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

**Profil STR**

**Amelogenin:** x,y  
**CSF1PO:** 7,8  
**D13S317:** 8  
**D16S539:** 12,13  
**D5S818:** 10,11  
**D7S820:** 10  
**TH01:** 7,9  
**TPOX:** 11  
**vWA:** 14,18  
**D3S1358:** 15  
**D21S11:** 28,32  
**D18S51:** 16,17  
**Penta E:** 8,17  
**Penta D:** 2,2,11  
**D8S1179:** 13,15  
**FGA:** 22,23

**Alely HLA**

**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