

A704 Zellen | 300217

Allgemeine Informationen

Description

A-704 ist eine menschliche Epithelzelllinie, die aus dem Nierengewebe eines 78-jährigen männlichen Patienten mit Adenokarzinom stammt. Diese Zelllinie weist eine epitheliale Morphologie auf. Sie ist eine wertvolle Ressource für die Krebsforschung, insbesondere für die Untersuchung von Adenokarzinomen. A-704 ist eine vielseitige Zelllinie, die in der 3D-Zellkultur und als Transfektionswirt eingesetzt werden kann.

A-704 wurde von D.J. Giard entwickelt und zeichnet sich durch Konsistenz und Zuverlässigkeit in der experimentellen Umgebung aus. Die Karyotyp-Analyse zeigt, dass A-704-Zellen Anomalien wie Brüche, Dizentrik und Endoreduplikation aufweisen, die von diploid bis hyperdiploid, hypertriploid bis hypertetraploid reichen.

In immunsupprimierten Mäusen sind A-704-Zellen zwar nicht tumorigen, können aber in einem halbfesten Medium Kolonien bilden. A-704-Zellen weisen spezifische Isoenzymprofile auf, darunter AK-1, ES-D, G6PD, GLO-1, Me-2, PGM1 und PGM3.

Organism Menschen

Tissue Niere

Disease Adenokarzinom

Synonyms A.704, A-704

Merkmale

Age 78 Jahre

Gender Männlich

Ethnicity Kaukasisch

Morphology Epithelähnlich

Growth properties Monolayer, haftend

Regulatorische Daten

Citation A704 (Cytion Katalognummer 300217)

Biosafety level 1

A704 Zellen | 300217

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1065

Biomolekulare Daten

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

Tumorigenic Nein

Karyotype (P59) diploid bis hyperdiploid, hypertriploid bis hypertetraploid mit Anomalien wie Brüchen, Dizentrik und Endoreduplikation

Handhabung

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion-Artikelnummer 820100a)

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS und 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Split ratio Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3 bis 1:4

Seeding density 1×10^4 Zellen/cm² führen innerhalb von 4 Tagen zu einer konfluenten Monoschicht.

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

Post-Thaw Recovery Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5×10^4 Zellen/cm² ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhären lassen.

A704 Zellen | 300217

Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärennten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

A704 Zellen | 300217

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

STR-Profil

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

HLA-Allele

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