

A704 Cellule | 300217**Informazioni generali****Description**

A-704 è una linea cellulare epiteliale umana derivata dal tessuto renale di un paziente maschio di 78 anni affetto da adenocarcinoma. Questa linea cellulare presenta una morfologia epiteliale. È una risorsa preziosa per la ricerca sul cancro, in particolare per lo studio dell'adenocarcinoma. A-704 è una linea cellulare versatile con applicazioni nella coltura cellulare 3D e come ospite di trasfezione.

Derivata da D.J. Giard, A-704 mantiene coerenza e affidabilità nelle impostazioni sperimentali. L'analisi del cariotipo rivela che le cellule A-704 presentano anomalie come rotture, dicentri ed endoreduplicazione, da diploidi a iperdiploidi, da ipertriploidi a ipertetraploidi.

Pur non essendo tumorigeniche nei topi immunosoppressi, le cellule A-704 possono formare colonie in un terreno semisolido. Le cellule A-704 presentano profili isoenzimatici specifici, tra cui AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 e PGM3.

Organism Umano**Tissue** Rene**Disease** Adenocarcinoma**Synonyms** A.704, A-704**Caratteristiche****Age** 78 anni**Gender** Uomo**Ethnicity** Caucasico**Morphology** Simile all'epitelio**Growth properties** Monostrato, aderente**Dati normativi****Citation** A704 (numero di catalogo Cytion 300217)**Biosafety level** 1

A704 Cellule | 300217

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1065

Dati biomolecolari

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

Tumorigenic No

Karyotype (P59) da diploide a iperdiploide, da ipertriploide a ipertetraploide con anomalie che includono rotture, dicentri ed endoreduplicazione

Manipolazione

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

Supplements Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Split ratio Si raccomanda un rapporto da 1:3 a 1:4

Seeding density 1×10^4 cellule/cm² darà origine a un monostrato confluyente entro 4 giorni.

Fluid renewal da 2 a 3 volte alla settimana

Post-Thaw Recovery Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5×10^4 cellule/cm² e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

A704 Cellule | 300217

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

A704 Cellule | 300217

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo 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

Alleli 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