

A704 Cellen | 300217

Algemene informatie

Description

A-704 is een menselijke epitheliale cellijn afkomstig van nierweefsel van een 78-jarige mannelijke patiënt met adenocarcinoom. Deze cellijn vertoont een epitheliale morfologie. Het is een waardevolle bron voor kankeronderzoek, met name voor het bestuderen van adenocarcinoom. A-704 is een veelzijdige cellijn met toepassingen in 3D-celkweek en als gastheer voor transfectie.

Afgeleid door D.J. Giard, behoudt A-704 consistentie en betrouwbaarheid in experimentele settings. Karyotypeanalyse onthult dat A-704 cellen afwijkingen vertonen zoals breuken, dicentrische en endoreduplicatie, variërend van diploïd tot hyperdiploïd, hypertriploïd tot hypertetraploïd.

Hoewel A-704 cellen geen tumorigene werking hebben in immuunsuppressieve muizen, kunnen ze kolonies vormen in een halfvast medium. A-704 cellen vertonen specifieke iso-enzymprofielen, waaronder AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 en PGM3.

Organism Mens

Tissue Nieren

Disease Adenocarcinoom

Synonyms A.704, A-704

Kenmerken

Age 78 jaar

Gender Mannelijk

Ethnicity Kaukasisch

Morphology Epitheelachtig

Growth properties Monolaag, adherent

Regelgevende gegevens

Citation A704 (Cytion catalogusnummer 300217)

Biosafety level 1

A704 Cellen | 300217

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1065**Biomoleculaire gegevens****Isoenzymes** Me-2, 1, PGM3, 1-2, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 2, G6PD, B**Tumorigenic** Geen**Karyotype** (P59) diploïd tot hyperdiploïd, hypertriploïd tot hypertetraploïd met afwijkingen zoals breuken, dicentrische en endoreduplicatie**Omgaan met****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS en 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.**Split ratio** Een verhouding van 1:3 tot 1:4 wordt aanbevolen**Seeding density** 1×10^4 cellen/cm² resulteert binnen 4 dagen in een confluenta monolaag.**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week**Post-Thaw Recovery** Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van 5×10^4 c^{ellen}/cm² en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.

A704 Cellen | 300217

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

A704 Cellen | 300217

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

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-allelen

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