

Komórki A704 | 300217**Informacje ogólne****Description**

A-704 to ludzka nabłonkowa linia komórkowa pochodząca z tkanki nerki 78-letniego mężczyzny z gruczolakerakiem. Ta linia komórkowa wykazuje morfologię nabłonkową. Jest to cenne źródło informacji w badaniach nad rakiem, szczególnie w przypadku gruczolakeraka. A-704 jest wszechstronną linią komórkową do zastosowań w hodowli komórkowej 3D i jako gospodarz transfekcji.

Uzyskana przez D.J. Giard, A-704 zachowuje spójność i niezawodność w warunkach eksperymentalnych. Analiza kariotypu ujawnia, że komórki A-704 wykazują nieprawidłowości, takie jak pęknięcia, dicentryczność i endoreduplikacja, od diploidalnych do hiperdiploidalnych, hipertriploidalnych do hipertetraploidalnych.

Chociaż komórki A-704 nie są nowotworowe u myszy poddanych immunosupresji, mogą one tworzyć kolonie na podłożu półstałym. Komórki A-704 wykazują specyficzne profile izoenzymów, w tym AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 i PGM3.

Organism Człowiek**Tissue** Nerka**Disease** Gruczolakerak**Synonyms** A.704, A-704**Charakterystyka****Age** 78 lat**Gender** Męczyzna**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Podobny do nabłonka**Growth properties** Monowarstwa, przylegająca**Dane regulacyjne****Citation** A704 (numer katalogowy Cytion 300217)**Biosafety level** 1

Komórki A704 | 300217**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1065**Dane biomolekularne****Isoenzymes** Me-2, 1, PGM3, 1-2, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 2, G6PD, B**Tumorigenic** Nie**Karyotype** (P59) diploidalne do hiperdiploidalnych, hipertriploidalne do hipertetraploidalnych z nieprawidłowościami, w tym pęknięciami, dicentrycznością i endoreduplikacją**Obsługa****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS i 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:3 do 1:4**Seeding density** 1×10^4 komórek/cm² spowoduje powstanie zlewającej się monowarstwy w ciągu 4 dni.**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Post-Thaw Recovery** Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

Komórki A704 | 300217

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki A704 | 300217

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

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

Komórki A704 | 300217

Allele 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