

A704 Células | 300217**Informações gerais****Description**

A-704 é uma linha celular epitelial humana derivada de tecido renal de um doente do sexo masculino de 78 anos com adenocarcinoma. Esta linha celular apresenta uma morfologia epitelial. É um recurso valioso na investigação do cancro, particularmente para o estudo do adenocarcinoma. A-704 é uma linha celular versátil com aplicações em cultura de células 3D e como hospedeira de transfecção.

Derivada de D.J. Giard, a A-704 mantém a consistência e a fiabilidade em ambientes experimentais. A análise do cariótipo revela que as células A-704 apresentam anomalias como quebras, dicêntricos e endoreduplicação, variando de diploide a hiperdiploide, hipertriplóide a hipertetraplóide.

Embora não sejam tumorigénicas em ratos imunossuprimidos, as células A-704 podem formar colónias num meio semi-sólido. As células A-704 apresentam perfis isoenzimáticos específicos, incluindo AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 e PGM3.

Organism Humano**Tissue** Rim**Disease** Adenocarcinoma**Synonyms** A.704, A-704**Caraterísticas****Age** 78 anos**Gender** Masculino**Ethnicity** Caucasiano**Morphology** De tipo epitelial**Growth properties** Monocamada, aderente**Dados regulamentares****Citation** A704 (número de catálogo Cytion 300217)**Biosafety level** 1

A704 Células | 300217

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1065

Dados biomoleculares

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

Tumorigenic Não

Karyotype (P59) diploide a hiperdiplóide, hipertriplóide a hipertetraplóide com anomalias incluindo quebras, dicêntricos e endoreduplicação

Manuseamento

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO₃, com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Seeding density 1×10^4 células/cm² resultará numa monocamada confluenta em 4 dias.

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Post-Thaw Recovery Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

A704 Células | 300217**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

**Freezing
Procedure**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

A704 Células | 300217

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

Alelos 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