

A704 Celule | 300217

Informații generale

Description

A-704 este o linie celulară epitelială umană derivată din țesutul renal al unui pacient de 78 de ani cu adenocarcinom. Această linie celulară prezintă o morfologie epitelială. Este o resursă valoroasă în cercetarea cancerului, în special pentru studiul adenocarcinomului. A-704 este o linie celulară versatilă cu aplicații în cultura celulară 3D și ca gazdă de transfecție.

Derivată de D.J. Giard, A-704 menține consecvența și fiabilitatea în setările experimentale. Analiza cariotipului arată că celulele A-704 prezintă anomalii precum rupturi, dicentrice și endoreduplicații, variind de la diploid la hiperdiploid, hipertriploid la hipertetraploid.

Deși nu sunt tumorigene la șoarecii imunosupresați, celulele A-704 pot forma colonii într-un mediu semisolid. Celulele A-704 prezintă profiluri izoenzimatic specifice, inclusiv AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 și PGM3.

Organism

Om

Tissue

Rinichi

Disease

Adenocarcinom

Synonyms

A.704, A-704

Caracteristici

Age

78 de ani

Gender

Masculin

Ethnicity

Caucasian

Morphology

De tip epitelial

Growth properties

Monostrat, aderent

Date de reglementare

Citation

A704 (număr de catalog Cytion 300217)

Biosafety level

1

A704 Celule | 300217

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1065

Date biomoleculare

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

Tumorigenic Nu

Karyotype (P59) diploid până la hiperdiploid, hipertriploid până la hipertetraploid cu anomalii incluzând rupturi, dicentrice și endoreduplicare

Manipulare

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

Supplements Suplimentați mediul cu 10% FBS și 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.

Seeding density 1×10^4 celule/cm² va duce la formarea unui strat unic confluent în termen de 4 zile.

Fluid renewal de 2 până la 3 ori pe săptămână

Post-Thaw Recovery După decongelare, plasați celulele la 5×10^4 celule/cm² și lăsați-le să se recupereze după procesul de congelare și să adere timp de cel puțin 24 de ore.

Freeze medium Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

A704 Celule | 300217

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

A704 Celule | 300217

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Alele 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