

A704 Celice | 300217

Splošne informacije

Description

A-704 je človeška epiteljska celična linija, pridobljena iz ledvičnega tkiva 78-letnega bolnika z adenokarcinomom. Ta celična linija ima epiteljsko morfologijo. Je dragocen vir za raziskave raka, zlasti za preučevanje adenokarcinoma. A-704 je vsestranska celična linija, ki se uporablja v 3D-celičnih kulturah in kot gostitelj za transfekcijo.

A-704, ki jo je pridobil D. J. Giard, ohranja doslednost in zanesljivost v eksperimentalnih okoljih. Analiza kariotipa razkriva, da imajo celice A-704 nepravilnosti, kot so prelomi, dicentriki in endoreduplikacija, od diploidnih do hiperdiploidnih, hipertriploidnih do hipertraploidnih.

Čprav pri imunosuprimiranih miših niso tumorogene, lahko celice A-704 tvorijo kolonije v poltrdnem gojišču. Celice A-704 imajo specifične profile izoenzimov, vključno z AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 in PGM3.

Organism Človek

Tissue Ledvice

Disease Adenokarcinom

Synonyms A.704, A-704

Značilnosti

Age 78 let

Gender Moški

Ethnicity Kavkaški

Morphology Epitelijam podobni

Growth properties Enoslojni, adherentni

Regulativni podatki

Citation A704 (kataloška številka Cytion 300217)

Biosafety level 1

A704 Celice | 300217

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1065

Biomolekularni podatki

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

Tumorigenic Ne

Karyotype (P59) diploidni do hiperdiploidni, hipertriploidni do hipertraploidni z nepravilnostmi, vključno s prekinitvami, dicentriki in endoreduplikacijo

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Seeding density 1×10^4 celic/cm² bo v 4 dneh povzročilo konfluentno monosloj.**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Post-Thaw Recovery** Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5×10^4 cel^{ic}/cm² in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

A704 Celice | 300217

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

A704 Celice | 300217

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Aleli 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