

## A704 Клітини | 300217

## Загальна інформація

## Description

A-704 - це лінія епітеліальних клітин людини, отримана з тканини нирки 78-річного пацієнта з аденокарциномою. Ця клітинна лінія має епітеліальну морфологію. Це цінний ресурс для дослідження раку, особливо для вивчення аденокарциноми. A-704 - це універсальна клітинна лінія, яка застосовується в 3D-культурі клітин і в якості перещеплюваної лінії для трансфекції.

Отримана D.J. Giard, A-704 зберігає стабільність і надійність в експериментальних умовах. Аналіз каріотипу показує, що клітини A-704 мають аномалії, такі як розриви, дицентрики та ендоредуплікація, варіюючи від диплоїдних до гіпердиплоїдних, гіпертриплоїдних до гіпертетраплоїдних.

Хоча клітини A-704 не є пухлинними в імуносупресованих мишах, вони можуть утворювати колонії в напівтвердому середовищі. Клітини A-704 демонструють специфічні ізоферментні профілі, включаючи AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 і PGM3.

**Organism** Людина

**Tissue** Нирка

**Disease** Аденокарцинома

**Synonyms** A.704, A-704

## Характеристики

**Age** 78 років

**Gender** Чоловік

**Ethnicity** Кавказець

**Morphology** Епітеліальноподібні

**Growth properties** Одношаровий, адгезійний

## Нормативні дані

**Citation** A704 (номер за каталогом Cytion 300217)

**Biosafety level** 1

## A704 Клітини | 300217

NCBI\_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL\_1065

## Біомолекулярні дані

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

Tumorigenic Ні

Karyotype (P59) від диплоїдного до гіперплоїдного, від гіпертриплоїдного до гіпертетраплоїдного з аномаліями, включаючи розриви, дицентрики та ендоредуплікацію

## Обробка

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 мМ L-глутамін, w: 2,2 г/л NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (цит. номер 820100a)

Supplements Додайте до середовища 10% FBS та 1% NEAA

Dissociation Reagent Аккутаза

**Subculturing** Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надсадкову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup> призведе до утворення конфлюентного моношару протягом 4 днів.

**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень

**Post-Thaw Recovery** Після розморожування висійте клітини з щільністю  $5 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup> і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.

**Freeze medium** Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

## A704 Клітини | 300217

### Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

### Flask Coating

Ні

### Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно  $-78^{\circ}\text{C}$  під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

## A704 Клітини | 300217

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

### HLA алелі

**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