

Células A704 | 300217**Información general****Description**

La A-704 es una línea celular epitelial humana derivada del tejido renal de un paciente varón de 78 años con adenocarcinoma. Esta línea celular presenta una morfología epitelial. Es un recurso valioso para la investigación del cáncer, especialmente para el estudio del adenocarcinoma. La A-704 es una línea celular versátil con aplicaciones en el cultivo celular 3D y como huésped de transfección.

Derivada por D.J. Giard, la A-704 mantiene consistencia y confiabilidad en entornos experimentales. El análisis del cariotipo revela que las células A-704 presentan anomalías tales como roturas, dicéntricos y endoreduplicación, que van desde diploides hasta hiperdiploides, e hipertriploides hasta hipertetraploides.

Aunque no son tumorigénicas en ratones inmunosuprimidos, las células A-704 pueden formar colonias en un medio semisólido. Las células A-704 presentan perfiles específicos de isoenzimas, entre las que se incluyen AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 y PGM3.

Organism Humano**Tissue** Riñón**Disease** Adenocarcinoma**Synonyms** A.704, A-704**Características****Age** 78 años**Gender** Hombre**Ethnicity** caucásico**Morphology** De tipo epitelial**Growth properties** Monocapa, adherente**Datos normativos****Citation** A704 (número de catálogo de Cytion 300217)**Biosafety level** 1

Células A704 | 300217

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1065

Datos biomoleculares

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

Tumorigenic No

Karyotype (P59) de diploide a hiperdiploide, de hipertriploide a hypertetraploide, con anomalías que incluyen roturas, dicéntricos y endoreduplicación

Manejo

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), con: 2 mM de L-glutamina, con: 2,2 g/L de NaHCO₃, con: EBSS (número de artículo de Cytion 820100a)

Supplements Añade al medio un 10 % de FBS y un 1 % de NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfíralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.

Seeding density 1×10^4 células/cm² dará como resultado una monocapa confluyente en un plazo de 4 días.

Fluid renewal De 2 a 3 veces por semana

Post-Thaw Recovery Después de descongelarlas, siembre las células a una densidad de 5×10^4 células/cm² y deje que se recuperen del proceso de congelación y se adhieran durante al menos 24 horas.

Freeze medium Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Células A704 | 300217

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiera todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % de CO_2 , atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, aproximadamente. El almacenamiento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.