

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

A-704 é uma linhagem celular epitelial humana derivada do tecido renal de um paciente do sexo masculino de 78 anos com adenocarcinoma. Essa linhagem celular apresenta morfologia epitelial. É um recurso valioso na pesquisa sobre o câncer, particularmente para o estudo do adenocarcinoma. A A-704 é uma linhagem celular versátil, com aplicações em cultura celular 3D e como hospedeira para transfecção.

Derivada por D.J. Giard, a A-704 mantém consistência e confiabilidade em ambientes experimentais. A análise do cariótipo revela que as células A-704 apresentam anomalias, como quebras, dicêntricos e endoreduplicação, variando de diploides a hiperdiploides, de hipertriploides a hipertetraploides.

Embora não sejam tumorigênicas em camundongos imunossuprimidos, as células A-704 podem formar colônias em um meio semissólido. As células A-704 apresentam perfis específicos de isoenzimas, incluindo AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 e PGM3.

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

**Células A704 | 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) de diploide a hiperdiploide, de hipertriploide a hypertetraploide, com anomalias que incluem quebras, dicêntricos e endoreduplicação**Manuseio****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), contendo: 2 mM de L-glutamina, contendo: 2,2 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, contendo: EBSS (número de artigo da Cytion 820100a)**Supplements** Adicione ao meio 10% de FBS e 1% de NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> resultará em uma monocamada confluenta em 4 dias.**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Post-Thaw Recovery** Após o descongelamento, semeie as células a uma densidade de  $5 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> e deixe que elas se recuperem do processo de congelamento e se adiram por pelo menos 24 horas.**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

## Células A704 | 300217

### Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO<sub>2</sub>, atmosfera umidificada.

### Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

## Controle de Qualidade e Análise Molecular

## Células A704 | 300217

### **Sterility**

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.