

Buňky NCI-H295R | 300483

Obecné informace

Description H295R byla upravena z buněčné linie pluripotentního adrenokortikálního karcinomu NCI-H295, kterou vytvořil A. F. Gazdar a spolupracovníci (1990) z karcinomu kůry nadledvin. Původní buňky byly upraveny na kultivační médium, které zkrátilo dobu zdvojení populace z 5 dnů na 2 dny. Upravené buňky byly vybrány tak, aby rostly v monovrstvě, na rozdíl od původních buněk, které rostly v suspenzi. Tato buněčná linie si zachovává schopnost produkovat nadledvinové androgeny. Je citlivá na angiotenzin II a draselné ionty.

Organism Člověk

Tissue Nadledvinky

Disease Karcinom

Synonyms NCI-H295R, NCI H295R, NCIH295R, H-295R, H295R-S1

Charakteristika

Age 48 let

Gender Ženy

Ethnicity Kavkazský

Morphology Epitelu podobné

Growth properties Monovrstva, adherentní

Regulační údaje

Citation NCI-H295R (katalogové číslo Cytion 300483)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0458

Biomolekulární data

Buňky NCI-H295R | 300483

Products	Aldosteron, kortizol, C19 steroidy
-----------------	------------------------------------

Zpracování

Culture Medium	Můžete si zakoupit naše médium pro růst buněk NCI-H295R připravené k použití (820402) nebo si zvolit doplnění DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820400a) s níže uvedenými přísadami
-----------------------	--

Supplements	Doplňte médium o 5 % FBS, 0,00625 mg/ml inzulinu, 0,00625 mg/ml transferinu, 6,25 ng/ml selenu, 1,25 mg/ml hovězího sérového albuminu, 0,00535 mg/ml kyseliny linolové
--------------------	--

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
---------------------	--

Split ratio	Doporučuje se poměr 1:3 až 1:4
--------------------	--------------------------------

Fluid renewal	2 až 3krát týdně
----------------------	------------------

Post-Thaw Recovery	48 hodin
---------------------------	----------

Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.
----------------------	--

Buňky NCI-H295R | 300483

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky NCI-H295R | 300483**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 10,12
D13S317: 13
D16S539: 11
D5S818: 12
D7S820: 9,12
TH01: 9.3
TPOX: 8
vWA: 17,18
D3S1358: 15,16
D21S11: 32.2
D18S51: 17
Penta E: 5,12
Penta D: 8
D8S1179: 13
FGA: 19.2,24

Alely HLA

A*: '02:01:01
B*: '15:10:01
C*: '03:04:02
DRB1*: '01:01:01
DQA1*: '01:01:01
DQB1*: '05:01:01
DPB1*: '04:02:01
E: '01:03:02