

Komórki NCI-H295R | 300483

Informacje ogólne

Description H295R został zaadaptowany z pluripotencjalnej linii komórkowej raka kory nadnerczy NCI-H295 utworzonej przez A.F. Gazdara i współpracowników (1990) z raka kory nadnerczy. Oryginalne komórki zostały zaadaptowane do podłoża hodowlanego, które skróciło czas podwojenia populacji z 5 do 2 dni. Zaadaptowane komórki zostały wyselekcjonowane do wzrostu w monowarstwie, w przeciwieństwie do oryginalnych komórek, które rosły w zawieszynie. Ta linia komórkowa zachowuje zdolność do produkcji androgenów nadnerczowych. Jest wrażliwa na angiotensynę II i jony potasu.

Organism Człowiek

Tissue Nadnercza

Disease Rak

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

Charakterystyka

Age 48 lat

Gender Kobieta

Ethnicity Kaukaski

Morphology Podobny do nabłonka

Growth properties Monowarstwa, przylegająca

Dane regulacyjne

Citation NCI-H295R (numer katalogowy Cytion 300483)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0458

Dane biomolekularne

Komórki NCI-H295R | 300483

Products	Aldosteron, kortyzol, steroidy C19
-----------------	------------------------------------

Obsługa

Culture Medium	Możesz zakupić naszą gotową do użycia pożywkę do hodowli komórek NCI-H295R (820402) lub zdecydować się na uzupełnienie DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820400a) o poniższe dodatki
-----------------------	---

Supplements	Uzupełnić pożywkę 5% FBS, 0,00625 mg/ml insuliny, 0,00625 mg/ml transferyny, 6,25 ng/ml selenu, 1,25 mg/ml albuminy surowicy bydlęcej, 0,00535 mg/ml kwasu linolowego
--------------------	---

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

Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
---------------------	---

Split ratio	Zalecany jest stosunek 1:3 do 1:4
--------------------	-----------------------------------

Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
----------------------	------------------------

Post-Thaw Recovery	48 godzin
---------------------------	-----------

Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.
----------------------	---

Komórki NCI-H295R | 300483

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki NCI-H295R | 300483

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

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

Allele 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