

Células NCI-H295R | 300483

Informações gerais

Description A H295R foi adaptada da linha celular de carcinoma adrenocortical pluripotente NCI-H295 estabelecida por A.F. Gazdar e colaboradores (1990) a partir de um carcinoma do córtex adrenal. As células originais foram adaptadas a um meio de cultura que diminuiu o tempo de duplicação da população de 5 dias para 2 dias. As células adaptadas foram selecionadas para crescerem em monocamada, em contraste com as células originais que cresciam em suspensão. Esta linha celular mantém a capacidade de produzir androgénios adrenais. É sensível à angiotensina II e aos iões de potássio.

Organism Humano

Tissue Glândula adrenal

Disease Carcinoma

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

Caraterísticas

Age 48 anos

Gender Feminino

Ethnicity Caucasiano

Morphology De tipo epitelial

Growth properties Monocamada, aderente

Dados regulamentares

Citation NCI-H295R (número de catálogo Cytion 300483)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0458

Dados biomoleculares

Células NCI-H295R | 300483

Products	Aldosterona, cortisol, esteróides C19
-----------------	---------------------------------------

Manuseamento

Culture Medium	Pode adquirir o nosso meio de crescimento celular NCI-H295R pronto a utilizar (820402) ou optar por suplementar DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamina, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Piruvato de sódio, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (número de artigo Cytion 820400a) com os aditivos abaixo indicados
-----------------------	--

Supplements	Suplementar o meio com 5% de FBS, 0,00625 mg/mL de insulina, 0,00625 mg/mL de transferrina, 6,25 ng/mL de selénio, 1,25 mg/mL de albumina de soro bovino, 0,00535 mg/mL de ácido linoleico
--------------------	--

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

Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
---------------------	--

Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
----------------------	------------------------

Post-Thaw Recovery	48 horas
---------------------------	----------

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.
----------------------	---

Células NCI-H295R | 300483**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO₂, atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

**Freezing
Procedure**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

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

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

**Storage
Conditions**

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA**Sterility**

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

Alelos 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