

NCI-H295R šūnas | 300483

Vispārīga informācija

Description H295R tika adaptēta no NCI-H295 pluripotentās virsnieru garozas karcinomas šūnu līnijas NCI-H295, ko A.F. Gazdar un līdzstrādnieki (1990) izveidoja no virsnieru garozas karcinomas. Sākotnējās šūnas tika pielāgotas barotnei, kas samazināja populācijas dubultošanās laiku no 5 dienām līdz 2 dienām. Pielāgotās šūnas tika atlasītas augšanai monoslānī, atšķirībā no sākotnējām šūnām, kas auga suspensijā. Šī šūnu līnija saglabā spēju ražot virsnieru androgēnus. Tā reaģē uz angiotenzīnu II un kālija joniem.

Organism Cilvēks

Tissue Virsnieru dziedzeris

Disease Karcinoma

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

Raksturojums

Age 48 gadi

Gender Sievietes

Ethnicity Kaukāzietis

Morphology Epitēlijveidīgs

Growth properties Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

Citation NCI-H295R (Cytion kataloga numurs 300483)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0458

Biomolekulārie dati

NCI-H295R šūnas | 300483

Products Aldosterons, kortizols, C19 stereoīdi

Darbs ar

Culture Medium Jūs varat iegādāties mūsu gatavu NCI-H295R šūnu augšanas barotni (820402) vai izvēlēties papildināt DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a) ar turpmāk minētajām piedevām

Supplements Papildināt barotni ar 5% FBS, 0,00625 mg/ml insulīna, 0,00625 mg/ml transferīna, 6,25 ng/ml selēna, 1,25 mg/ml liellopu seruma albumīna, 0,00535 mg/ml linolskābes

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Split ratio Ieteicamais proporcijas ir no 1:3 līdz 1:4

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Post-Thaw Recovery 48 stundas

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

NCI-H295R šūnas | 300483

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

NCI-H295R šūnas | 300483

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

STR profils

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 10,12
D13S317: 13
D16S539: 11
D5S818: 12
D7S820: 9,12
TH01: 9. marts
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

HLA alēles

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