

NCI-H295R-solut | 300483

Yleisiä tietoja

Description H295R on muunnettu A.F. Gazdarin ja kumppaneiden (1990) lisämunuaiskuoren karsinoomasta perustamasta NCI-H295 pluripotentista lisämunuaiskuoren karsinooman solulinjasta. Alkuperäiset solut mukautettiin kasvatusalustaan, joka lyhensi populaation kaksinkertaistumisaikaa 5 päivästä 2 päivään. Mukautetut solut valittiin kasvamaan yksikerroksisina, toisin kuin alkuperäiset solut, jotka kasvoivat suspensiossa. Tämä solulinja säilyttää kyvyn tuottaa lisämunuaisen androgeeneja. Se reagoi angiotensiini II:een ja kaliumioneihin.

Organism Ihminen

Tissue Lisämunuainen

Disease Syöpä

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

Ominaisuudet

Age 48 vuotta

Gender Nainen

Ethnicity Kaukasialainen

Morphology Epiteelin kaltainen

Growth properties Yksikerroksinen, tarttuva

Säätelytiedot

Citation NCI-H295R (Cytionin luettelonumero 300483)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0458

Biomolekyylitiedot

NCI-H295R-solut | 300483

Products Aldosteroni, kortisoli, C19-steroidit

Käsittely

Culture Medium Voit ostaa valmiin NCI-H295R-solukasvatusmediumin (820402) tai täydentää sitä DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820400a) alla olevilla lisäaineilla

Supplements Täydennetään elatusainetta 5 % FBS:llä, 0,00625 mg/ml insuliinilla, 0,00625 mg/ml transferrinillä, 6,25 ng/ml seleenillä, 1,25 mg/ml naudan seerumin albumiinilla, 0,00535 mg/ml linolihapolla

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Split ratio Suositeltava suhde on 1:3-1:4

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Post-Thaw Recovery 48 tuntia

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

NCI-H295R-solut | 300483

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

NCI-H295R-solut | 300483

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välvaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

STR-profiili

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

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