Product sheet

Cellule NCI-H295R | 300483

Informazioni generali

Description	H295R è stata adattata dalla linea cellulare pluripotente di carcinoma adrenocorticale NCI-H295 creata da A.F. Gazdar e collaboratori (1990) a partire da un carcinoma della corteccia surrenale. Le cellule originali sono state adattate a un terreno di coltura che ha ridotto il tempo di raddoppio della popolazione da 5 a 2 giorni. Le cellule adattate sono state selezionate per crescere in un monostrato, a differenza delle cellule originali che crescevano in sospensione. Questa linea cellulare mantiene la capacità di produrre androgeni surrenali. È sensibile all'angiotensina II e agli ioni potassio.
Organism	Umano
Tissue	Ghiandola surrenale
Disease	Carcinoma
Synonyms	NCI-H295R, NCI H295R, NCIH295R, H-295R, H295R-S1

Caratteristiche

Age	48 anni
Gender	Donna
Ethnicity	Caucasico
Morphology	Simile all'epitelio
Growth properties	Monostrato, aderente

Dati normativi

Citation	NCI-H295R (catalogo Cytion numero 300483)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0458

Dati biomolecolari

Cellule NCI-H295R | 300483

Products	Aldosterone, cortisolo, steroidi C19

Manipolazione

Culture Medium	È possibile acquistare il nostro terreno di coltura per cellule NCI-H295R pronto all'uso (820402) o scegliere di integrare DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L di glucosio, w: 2,5 mM di L-Glutammina, w: 15 mM di HEPES, w: 0,5 mM di piruvato di sodio, w: 1,2 g/L di NaHCO3 (articolo Cytion numero 820400a) con i seguenti additivi
Supplements	Integrare il terreno con 5% FBS, 0,00625 mg/mL di insulina, 0,00625 mg/mL di transferrina, 6,25 ng/mL di selenio, 1,25 mg/mL di sieroalbumina bovina, 0,00535 mg/mL di acido linoleico
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
Split ratio	Si raccomanda un rapporto da 1:3 a 1:4
Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
Post-Thaw Recovery	48 ore
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule NCI-H295R | 300483

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule NCI-H295R | 300483

Storage Conditions	Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility	La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza. Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.
Profilo STR	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 10,12 **D13S317**: 13 **D16S539**: 11 **D5S818**: 12 **D7S820**: 9,12 **TH01**: 09. Mrz **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
Alleli 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