

NCI-H295R-cellen | 300483

Algemene informatie

Description H295R werd aangepast van de NCI-H295 pluripotente adrenocorticale carcinoomcellijn die door A.F. Gazdar en medewerkers (1990) werd gemaakt van een carcinoom van de bijnierschors. De oorspronkelijke cellen werden aangepast aan een kweekmedium dat de verdubbelingstijd van de populatie terugbracht van 5 dagen naar 2 dagen. De aangepaste cellen werden geselecteerd om in een monolaag te groeien, in tegenstelling tot de oorspronkelijke cellen die in suspensie groeiden. Deze cellijn behoudt het vermogen om bijnier androgenen te produceren. Ze reageert op angiotensine II en kaliumionen.

Organism Mens

Tissue Bijnier

Disease Carcinoom

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

Kenmerken

Age 48 jaar

Gender Vrouw

Ethnicity Kaukasisch

Morphology Epitheelachtig

Growth properties Monolaag, adherent

Regelgevende gegevens

Citation NCI-H295R (Cytion catalogusnummer 300483)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0458

Biomoleculaire gegevens

NCI-H295R-cellen | 300483

Products Aldosteron, cortisol, C19 steroïden

Omgaan met

Culture Medium Je kunt ons kant-en-klare NCI-H295R celgroeimeidium (820402) kopen of ervoor kiezen om DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glucose, w: 2,5 mM L-glutamine, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820400a) aan te vullen met de volgende additieven

Supplements Vul het medium aan met 5% FBS, 0,00625 mg/mL insuline, 0,00625 mg/mL transferrine, 6,25 ng/mL selenium, 1,25 mg/mL runderserumalbumine, 0,00535 mg/mL linolzuur

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio Een verhouding van 1:3 tot 1:4 wordt aanbevolen

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Post-Thaw Recovery 48 uur

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

NCI-H295R-cellen | 300483

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

**Freezing
Procedure**

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

**Shipping
Conditions**

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

NCI-H295R-cellen | 300483

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

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

HLA-allelen

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