

NCI-H295R-celler | 300483

Generell informasjon

Description H295R ble tilpasset fra den pluripotente binyrebarkkarsinomcellelinjen NCI-H295, som ble etablert av A.F. Gazdar og medarbeidere (1990) fra et karsinom i binyrebarken. De opprinnelige cellene ble tilpasset et dyrkningsmedium som reduserte populasjonens fordoblingstid fra 5 dager til 2 dager. De tilpassede cellene ble selektert til å vokse i et monolag, i motsetning til de opprinnelige cellene som vokste i suspensjon. Denne cellelinjen beholder evnen til å produsere binyreandrogen. Den reagerer på angiotensin II og kaliumioner.

Organism Menneskelig

Tissue Binyrene

Disease Karsinom

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

Kjennetegn

Age 48 år

Gender Kvinne

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Epitel-lignende

Growth properties Monolag, vedheftende

Regulatoriske data

Citation NCI-H295R (Cytion-katalognummer 300483)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0458

Biomolekylære data

NCI-H295R-celler | 300483

Products Aldosteron, kortisol, C19-steroider

Håndtering

Culture Medium Du kan kjøpe vårt ferdige NCI-H295R cellevekstmedium (820402) eller velge å supplere DMEM:Ham's F12 (1:1), m: 3,1 g/L glukose, m: 2,5 mM L-glutamin, m: 15 mM HEPES, m: 0,5 mM natriumpyruvat, m: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion-artikkelnummer 820400a) med følgende tilsetningsstoffer

Supplements Tilsett 5 % FBS, 0,00625 mg/mL insulin, 0,00625 mg/mL transferrin, 6,25 ng/mL selen, 1,25 mg/mL bovint serumalbumin, 0,00535 mg/mL linolsyre

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Split ratio Et forhold på 1:3 til 1:4 anbefales

Fluid renewal 2 til 3 ganger per uke

Post-Thaw Recovery 48 timer

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

NCI-H295R-celler | 300483

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkningsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

NCI-H295R-celler | 300483

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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-alleler

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