

Celule NCI-H295R | 300483

Informații generale

Description H295R a fost adaptată din linia celulară pluripotentă de carcinom adrenocortical NCI-H295 stabilită de A.F. Gazdar și asociații (1990) dintr-un carcinom al cortexului suprarenalian. Celulele originale au fost adaptate la un mediu de cultură care a redus timpul de dublare a populației de la 5 zile la 2 zile. Celulele adaptate au fost selectate pentru a crește într-un monocameră, spre deosebire de celulele originale care creșteau în suspensie. Această linie celulară păstrează capacitatea de a produce androgeni suprarenali. Ea răspunde la angiotensină II și la ionii de potasiu.

Organism Om

Tissue Glanda suprarenală

Disease Carcinom

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

Caracteristici

Age 48 de ani

Gender Femei

Ethnicity Caucazian

Morphology De tip epitelial

Growth properties Monostrat, aderent

Date de reglementare

Citation NCI-H295R (număr de catalog Cytion 300483)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0458

Date biomoleculare

Celule NCI-H295R | 300483

Products Aldosteron, cortizol, steroizi C19

Manipulare

Culture Medium Puteți achiziționa mediul nostru de creștere celulară NCI-H295R gata de utilizare (820402) sau puteți alege să suplimentați DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glucoză, w: 2,5 mM L-glutamină, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM piruvat de sodiu, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (număr articol Cytion 820400a) cu următorii aditivi

Supplements Suplimentați mediul cu 5% FBS, 0,00625 mg/mL insulină, 0,00625 mg/mL transferină, 6,25 ng/mL seleniu, 1,25 mg/mL albumină serică bovină, 0,00535 mg/mL acid linoleic

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.

Split ratio Se recomandă un raport de 1:3 până la 1:4

Fluid renewal de 2 până la 3 ori pe săptămână

Post-Thaw Recovery 48 de ore

Freeze medium Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule NCI-H295R | 300483**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

**Freezing
Procedure**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

**Shipping
Conditions**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule NCI-H295R | 300483

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Profilul STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 10,12
D13S317: 13
D16S539: 11
D5S818: 12
D7S820: 9,12
TH01: 09 martie
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

Alele 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