

NCI-H295R-celler | 300483

Allmän information

Description H295R anpassades från den pluripotenta adrenokortikala karcinomcellinjen NCI-H295 som etablerades av A.F. Gazdar och medarbetare (1990) från ett karcinom i binjurebarken. De ursprungliga cellerna anpassades till ett odlingsmedium som minskade populationsfördubblingstiden från 5 dagar till 2 dagar. De anpassade cellerna valdes ut för att växa i ett monolager, i motsats till de ursprungliga cellerna som växte i suspension. Denna cellinje behåller förmågan att producera binjureandrogener. Den reagerar på angiotensin II och kaliumjoner.

Organism Människan

Tissue Binjurebarken

Disease Carcinom

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

Egenskaper

Age 48 år

Gender Kvinna

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Epitelliknande

Growth properties Monolager, vidhäftande

Lagstadgade uppgifter

Citation NCI-H295R (Cytion katalognummer 300483)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0458

Biomolekylära data

NCI-H295R-celler | 300483

Products Aldosteron, kortisol, C19-steroider

Hantering

Culture Medium Du kan köpa vårt färdiga NCI-H295R Cell Growth Medium (820402) eller välja att komplettera DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukos, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPEs, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820400a) med nedanstående tillsatser

Supplements Komplettera med 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 linolsyra

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Split ratio Ett förhållande på 1:3 till 1:4 rekommenderas

Fluid renewal 2 till 3 gånger per vecka

Post-Thaw Recovery 48 timmar

Freeze medium Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

NCI-H295R-celler | 300483

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

NCI-H295R-celler | 300483

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

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