Product sheet

Cellules NCI-H295R | 300483

Renseignements généraux

Description	La lignée H295R a été dérivée de la lignée cellulaire pluripotente de carcinome corticosurrénalien NCI-H295, établie par A.F. Gazdar et ses collaborateurs (1990) à partir d'un carcinome du cortex surrénal. Les cellules d'origine ont été adaptées à un milieu de culture qui a permis de réduire le temps de doublement de la population de 5 jours à 2 jours. Les cellules adaptées ont été sélectionnées pour croître en monocouche, contrairement aux cellules d'origine qui croissaient en suspension. Cette lignée cellulaire conserve la capacité de produire des androgènes surrénaliens. Elle est sensible à l'angiotensine II et aux ions potassium.
Organism	Humain
Tissue	Glande surrénale
Disease	Carcinome
Synonyms	NCI-H295R, NCI H295R, NCIH295R, H-295R, H295R-S1

Caractéristiques

Age	48 ans
Gender	Femme
Ethnicity	caucasien
Morphology	De type épithélial
Growth properties	Monocouche, adhérente

Données réglementaires

Citation	NCI-H295R (numéro de catalogue Cytion 300483)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0458

Données biomoléculaires

Cellules NCI-H295R | 300483

Products	Aldostérone, cortisol, stéroïdes C19

Manipulation

Culture Medium	Vous pouvez vous procurer notre milieu de culture cellulaire NCI-H295R prêt à l'emploi (820402) ou choisir de compléter le DMEM :F12 de Ham (1:1), p/v : 3,1 g/L de glucose, p/v : 2,5 mM de L-glutamine, p/v : 15 mM d'HEPES, 0,5 mM de pyruvate de sodium, 1,2 g/L de $NaHCO_3$ (numéro d'article Cytion 820400a) avec les additifs suivants
Supplements	Ajouter au milieu 5 % de FBS, 0,00625 mg/mL d'insuline, 0,00625 mg/mL de transferrine, 6,25 ng/mL de sélénium, 1,25 mg/mL d'albumine sérique bovine et 0,00535 mg/mL d'acide linoléique
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Post-Thaw Recovery	48 heures
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules NCI-H295R | 300483

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.

4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.

8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.