

## Клетки NCI-H295R | 300483

## Обща информация

**Description** H295R е адаптиран от клетъчната линия NCI-H295 плурипотентен надбъбречнокортикален карцином, създадена от A.F. Gazdar и сътрудници (1990 г.) от карцином на надбъбречната кора. Оригиначните клетки са адаптирани към хранителна среда, която намалява времето за удвояване на популацията от 5 дни на 2 дни. Адаптираните клетки са избрани да растат в монослой, за разлика от оригиналните клетки, които растат в суспензия. Тази клетъчна линия запазва способността си да произвежда надбъбречни андрогени. Тя реагира на ангиотензин II и калиеви йони.

**Organism** Човек

**Tissue** Надбъбречна жлеза

**Disease** Карцином

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

## Характеристики

**Age** 48 години

**Gender** Жена

**Ethnicity** Кавказки

**Morphology** Подобни на епител

**Growth properties** Монослой, прилепнал

## Регулаторни данни

**Citation** NCI-H295R (каталожен номер 300483 на Cytion)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_0458

## Биомолекулярни данни

## Клетки NCI-H295R | 300483

**Products** Алдостерон, кортизол, C19 стероиди

## Работа с

**Culture Medium** Можете да закупите нашата готова за употреба среда за клетъчен растеж NCI-H295R (820402) или да изберете да добавите DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (номер на артикула на Cytion 820400a) със следните добавки

**Supplements** Допълнете средата с 5% FBS, 0,00625 mg/ml инсулин, 0,00625 mg/ml трансферин, 6,25 ng/ml селен, 1,25 mg/ml говежди серумен албумин, 0,00535 mg/ml линолова киселина

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

**Fluid renewal** 2 до 3 пъти седмично

**Post-Thaw Recovery** 48 часа

**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

## Клетки NCI-H295R | 300483

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

**Flask Coating**

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing  
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

## Клетки NCI-H295R | 300483

### Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

### Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около  $-150$  до  $-196^{\circ}\text{C}$ . Съхранението при  $-80^{\circ}\text{C}$  е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

## Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

### Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

### HLA алели

**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