

## NCI-H295R-celler | 300483

## Generel information

**Description** H295R blev tilpasset fra den pluripotente NCI-H295 binyrebark-karcinomcellelinje, der blev etableret af A.F. Gazdar og medarbejdere (1990) fra et karcinom i binyrebarken. De oprindelige celler blev tilpasset til et dyrkningsmedium, som reducerede populationsfordoblingstiden fra 5 dage til 2 dage. De tilpassede celler blev udvalgt til at vokse i et monolag i modsætning til de oprindelige celler, som voksede i suspension. Denne cellelinje bevarer evnen til at producere binyreandrogener. Den reagerer på angiotensin II og kaliumioner.

**Organism** Menneske

**Tissue** Binyrerne

**Disease** Karcinom

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

## Karakteristika

**Age** 48 år

**Gender** Kvinde

**Ethnicity** Kaukasisk

**Morphology** Epitel-lignende

**Growth properties** Monolag, klæbende

## 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 købe vores færdige NCI-H295R-cellevækstmedium (820402) eller vælge at supplere DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion-artikelnnummer 820400a) med nedenstående tilsætningsstoffer

**Supplements** Tilsæt mediet 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 medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

**Split ratio** Det anbefales at bruge et forhold på 1:3 til 1:4

**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen

**Post-Thaw Recovery** 48 timer

**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

## NCI-H295R-celler | 300483

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befugtet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

### Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

## NCI-H295R-celler | 300483

### Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

## Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

### STR-profil

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 10,12  
**D13S317:** 13  
**D16S539:** 11  
**D5S818:** 12  
**D7S820:** 9,12  
**TH01:** 9. marts  
**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