

## Κύτταρα NCI-H295R | 300483

## Γενικές πληροφορίες

**Description** Το H295R προσαρμόστηκε από την πολυδύναμη κυτταρική σειρά καρκινώματος του φλοιού των επινεφριδίων NCI-H295 που δημιουργήθηκε από τον A.F. Gazdar και τους συνεργάτες του (1990) από καρκίνωμα του φλοιού των επινεφριδίων. Τα αρχικά κύτταρα προσαρμόστηκαν σε μέσο καλλιέργειας που μείωσε το χρόνο διπλασιασμού του πληθυσμού από 5 ημέρες σε 2 ημέρες. Τα προσαρμοσμένα κύτταρα επιλέχθηκαν να αναπτύσσονται σε μονοστρωματική μορφή, σε αντίθεση με τα αρχικά κύτταρα που αναπτύσσονταν σε εναιώρημα. Αυτή η κυτταρική σειρά διατηρεί την ικανότητα παραγωγής επινεφριδιακών ανδρογόνων. Ανταποκρίνεται στην αγγειοτενσίνη II και στα ιόντα καλίου.

**Organism** Ανθρώπινο

**Tissue** Επινεφρίδιος αδένας

**Disease** Καρκίνωμα

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

## Χαρακτηριστικά

**Age** 48 χρόνια

**Gender** Γυναίκα

**Ethnicity** Καυκάσιος

**Morphology** Επιθηλιοειδής

**Growth properties** Μονοστρωματική, προσκολλημένη

## Ρυθμιστικά δεδομένα

**Citation** NCI-H295R (αριθμός καταλόγου Cytion 300483)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_0458

## Κύτταρα NCI-H295R | 300483

## Βιομοριακά δεδομένα

**Products** Αλδοστερόνη, κορτιζόλη, στεροειδή C19

## Χειρισμός

**Culture Medium** Μπορείτε να αγοράσετε το έτοιμο προς χρήση μέσο ανάπτυξης κυττάρων NCI-H295R (820402) ή να επιλέξετε να συμπληρώσετε το DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυροϋβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (αριθμός άρθρου Cytion 820400a) με τα παρακάτω πρόσθετα

**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 5% FBS, 0,00625 mg/mL ινσουλίνης, 0,00625 mg/mL τρανσφερρίνης, 6,25 ng/mL σεληνίου, 1,25 mg/mL αλβουμίνης ορού βοοειδών, 0,00535 mg/mL λινολεϊκού οξέος

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

**Split ratio** Συνιστάται αναλογία 1:3 έως 1:4

**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

**Post-Thaw Recovery** 48 ώρες

**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

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

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυσταλλικό αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυσταλλικό με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Flask Coating**

Κανένα

**Freezing  
Procedure**

Οι κρυσταλλοποιημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Κύτταρα NCI-H295R | 300483****Shipping Conditions**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Storage Conditions**

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

**Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA****Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

**Προφίλ STR**

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

**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