Product sheet

Клетки KHOS-312H | 300447

Обща информация

Description	KHOS-312H е човешка клетъчна линия на остеосарком, получена от рак на костите. Тази клетъчна линия е част от групата модели на остеосарком, получени от KHOS, която включва KHOSNP и KHOS-240S, наред с други. Подобно на други клетъчни линии за остеосарком, KHOS-312H се използва широко в изследванията на рака за изучаване на биологията на остеосаркомите, по-специално на техните генетични и молекулярни характеристики, и за оценка на потенциални терапевтични средства. Клетъчната линия KHOS-312H е известна със своята резистентност към определени целеви киназни инхибитори, като например тези, които засягат пътя PI3K-Akt-mTOR, което я прави основен модел за изучаване на механизмите на лекарствена резистентност при остеосарком. Една от значимите характеристики на клетъчната линия KHOS-312H е нейната полезност при високопроизводителен скрининг за противоракови лекарства. В широкомащабни скринингови проучвания KHOS-312H е тествана срещу широк набор от съединения, включително одобрени от FDA лекарства и изследвани агенти. Тези проучвания разкриват, че KHOS-312H показва различна степен на чувствителност и резистентност към различни класове противоракови лекарства, което помага на изследователите да очертаят молекулярния пейзаж на отговора на остеосарком към лечението. Особено подчертана е резистентността на клетъчната линия към инхибиторите на mTOR, което предполага потенциална необходимост от комбинирани терапии или нови средства за преодоляване на това предизвикателство.
Organism	Човек
Tissue	Bone
Disease	Остеосарком
Synonyms	KHOS-321H, KHOS312H, KHOS321H

Характеристики

Age	13 години
Gender	Жена
Ethnicity	Кавказки
Morphology	Подобни на фибробласти
Growth properties	Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Product sheet

Клетки KHOS-312H | 300447

Citation	KHOS-312H (каталожен номер 300447 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2545

Биомолекулярни данни

Tumorigenic	Не

Работа с

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA
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.
Seeding density	1×10^{4} клетки/cm^2
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^{4} клетки/cm^2 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 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 KHOS-312H | 300447

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 съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °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 антимикробен агент с температура 37°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 разбъркате 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°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Freezing Procedure

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

Клетки KHOS-312H | 300447

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °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 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

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***: '02:11:01 **B***: '52:01:01 **C***: '12:02:02 **DRB1***: '15:02:01G, '16:02:01G **DQA1***: '01:02:02, '01:03:01 **DQB1***: '05:02:01, '05:03:01 **DPB1***: '02:01:02 **E**: '01:01:01