

Buňky KHOS-312H | 300447

Obecné informace

Description

KHOS-312H je lidská buněčná linie osteosarkomu odvozená od rakoviny kostí. Tato buněčná linie je součástí skupiny modelů osteosarkomu odvozených od KHOS, do které patří mimo jiné KHOSNP a KHOS-240S. Stejně jako ostatní buněčné linie osteosarkomů se KHOS-312H hojně využívá ve výzkumu rakoviny ke studiu biologie osteosarkomů, zejména jejich genetických a molekulárních charakteristik, a k hodnocení potenciálních terapeutických látek. Buněčná linie KHOS-312H je známá svou rezistencí vůči některým cíleným inhibitorům kináz, například těm, které ovlivňují dráhu PI3K-Akt-mTOR, což z ní činí základní model pro studium mechanismů rezistence vůči lékům u osteosarkomu.

Jednou z významných vlastností buněčné linie KHOS-312H je její využitelnost při vysokokapacitním screeningu protinádorových léčiv. V rozsáhlých screeningových studiích byla linie KHOS-312H testována proti široké škále sloučenin, včetně léků schválených FDA i zkoumaných látek. Tyto studie odhalily, že KHOS-312H vykazuje různé stupně citlivosti a rezistence vůči různým třídám protinádorových léčiv, což výzkumníkům pomáhá zmapovat molekulární prostředí reakce osteosarkomu na léčbu. Zvláště byla zdůrazněna rezistence buněčné linie vůči inhibitorům mTOR, což naznačuje potenciální potřebu kombinované léčby nebo nových látek, které by tento problém překonaly.

Organism Člověk

Tissue Kost

Disease Osteosarkom

Synonyms KHOS-321H, KHOS312H, KHOS321H

Charakteristika

Age 13 let

Gender Ženy

Ethnicity Kavkazský

Morphology Fibroblastům podobné

Growth properties Monovrstva, adherentní

Regulační údaje

Citation KHOS-312H (katalogové číslo Cytion 300447)

Buňky KHOS-312H | 300447

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2545**Biomolekulární data****Tumorigenic** Ne**Zpracování****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO₃, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)**Supplements** Doplněte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:3**Seeding density** 1×10^4 buněk/cm²**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryem.

Buňky KHOS-312H | 300447

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky KHOS-312H | 300447**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x

CSF1PO: 12

D13S317: 12

D16S539: 10,13

D5S818: 13

D7S820: 11,12

TH01: 6

TPOX: 8,11

vWA: 18

D3S1358: 15

D21S11: 31.2,32.2

D18S51: 14,17

Penta E: 7,12

Penta D: 9,10

D8S1179: 11,14

FGA: 24

Alely HLA

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