

**KHOS-312H rakud | 300447****Üldine teave****Description**

KHOS-312H on inimese osteosarkoomi rakuliin, mis on saadud luuvähist. See rakuliin on osa KHOS-st saadud osteosarkoomi mudelite rühmast, kuhu kuuluvad muu hulgas ka KHOSNP ja KHOS-240S. Nagu teisi osteosarkoomi rakuliine, kasutatakse ka KHOS-312H-d ulatuslikult vähiuuringutes osteosarkoomide bioloogia, eelkõige nende geneetiliste ja molekulaarsete omaduste uurimiseks ning võimalike raviainete hindamiseks. KHOS-312H rakuliin on tuntud oma resistentsuse poolest teatavate suunatud kinaasi inhibiitorite suhtes, näiteks nende suhtes, mis mõjutavad PI3K-Akt-mTOR rada, mistõttu on see oluline mudel osteosarkoomi ravimresistentsuse mehhanismide uurimiseks.

KHOS-312H rakuliini üks olulisi omadusi on selle kasulikkus vähivastaste ravimite kõrge läbilaskevõimega skriiningus. KHOS-312H on laiaulatuslikes sõeluuringutes testitud paljude ühendite, sealhulgas nii FDA poolt heaks kiidetud ravimite kui ka uuritavate ainete suhtes. Need uuringud on näidanud, et KHOS-312H on erineval määral tundlik ja resistentne erinevate vähivastaste ravimite klasside suhtes, aidates teadlastel kaardistada osteosarkoomi ravivastuse molekulaarset maastikku. Eriti on esile toodud rakuliini resistentsus mTOR-inhibiitorite suhtes, mis viitab potentsiaalsele vajadusele kombineeritud ravi või uute ainete järele, et sellest väljakutsest üle saada.

**Organism** Inimene**Tissue** Bone**Disease** Osteosarkoom**Synonyms** KHOS-321H, KHOS312H, KHOS321H**Omadused****Age** 13 aastat**Gender** Naised**Ethnicity** Kaukaasia**Morphology** Fibroblastilaadsed**Growth properties** Monokihiline, kleepuv**Regulatiivsed andmed****Citation** KHOS-312H (Cytioni katalooginumber 300447)

**KHOS-312H rakud | 300447****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_2545**Biomolekulaarsed andmed****Tumorigenic** Ei**Töötlemine****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Post-Thaw Recovery** Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega  $5 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup> ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

**KHOS-312H rakud | 300447****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Freezing  
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping  
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## KHOS-312H rakud | 300447

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

### HLA alleles

**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