

KHOS-240S rakud | 300433

Üldine teave

Description

KHOS-240S on osteosarkoomi rakuliin, mis on saadud inimese luusarkoomi koest. Seda rakuliini ja selle variante on laialdaselt kasutatud osteosarkoomi (primaarne pahaloomuline luukasvaja, mis esineb peamiselt lastel ja noortel täiskasvanutel) uurimisel. Osteosarkoomi iseloomustab pahaloomuliste rakkude ebaküpsete luude (osteoid) tootmine ning see on tuntud oma agressiivse käitumise ja varase metastaasipotentsiaali poolest, eriti kopsudes.

KHOS-240S rakuliin on resistentne mitmetele kinaasi inhibiitoritele, sealhulgas neile, mis on suunatud PI3K-Akt-mTOR raja vastu. Selline resistentsus tavaliste ravimi sihtmärkide suhtes muudab KHOS-240S eriti väärtuslikuks osteosarkoomi ravimresistentsuse mehhanismide uurimiseks ja alternatiivsete ravistrateegiate uurimiseks. Teadlased on kasutanud seda rakuliini mitmesuguste onkoloogiliste ravimite ja uurimisravimite sõelumiseks, mis on viinud selliste ühendite tuvastamiseni, mis võiksid ületada resistentsuse mehhanisme. KHOS-240S-i kasutatavate uuringute puhul pakub erilist huvi ravimresistentsuse ja osteosarkoomi bioloogiaga seotud geenide, näiteks mTOR-signaaliteediga seotud geenide ekspressiooniprofil.

Lisaks on KHOS-240S-i kasutatud mikroRNA-de ekspressioonimustrite uurimisel, mis võivad korreleeruda ravimitundlikkuse või resistentsusega. Selle rakuliini spetsiifiline resistentsus PI3K-Akt-mTOR raja inhibiitorite suhtes on oluline mudel, et mõista, kuidas osteosarkoomid võivad kõrvale hiilida suunatud ravimeetoditest, ja pakub alust uute ravimeetodite väljatöötamiseks, mis võiksid suurendada ravi tõhusust resistentsete osteosarkoomi alatüüpide puhul.

Organism	Inimene
Tissue	Bone
Disease	Osteosarkoom
Synonyms	KHOS240S

Omadused

Age	13 aastat
Gender	Naised
Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Fibroblastilaadsed
Growth properties	Monokihiline, kleepuv

KHOS-240S rakud | 300433

Regulatiivsed andmed

Citation	KHOS-240S (Cytioni katalooginumber 300433)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2544

Biomolekulaarsed andmed

Tumorigenic	Ei
--------------------	----

Töötlemine

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , 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 x 10 ⁴ rakku/cm ²
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Post-Thaw Recovery	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5 x 10 ⁴ rakku/cm ² 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-240S rakud | 300433**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% 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-240S rakud | 300433

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*: '15:02:01
DQA1*: '01:03:01
DQB1*: '05:03:01
DPB1*: '02:01:02
E: '01:01:01