

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 kasutavate 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 NaHCO₃, 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** 1×10^4 rakku/cm²**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Post-Thaw Recovery** Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² 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 vial 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 vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x 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 söötmekekkond 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

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

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