Product sheet

KHOS-312H sejtek | 300447

Általános információk

Description	A KHOS-312H egy csontrákból származó humán osteosarcoma sejtvonal. Ez a sejtvonal a KHOS-ból származó csontritkulásos szarkóma modellek csoportjának része, amely többek között a KHOSNP és a KHOS-240S modelleket is magában foglalja. A többi oszteoszarkóma-sejtvonalhoz hasonlóan a KHOS-312H-t is széles körben használják a rákkutatásban az oszteoszarkómák biológiájának, különösen genetikai és molekuláris jellemzőinek tanulmányozására, valamint a potenciális terápiás szerek értékelésére. A KHOS-312H sejtvonal bizonyos célzott kinázgátlókkal, például a PI3K-Akt-mTOR útvonalat befolyásoló gátlókkal szembeni rezisztenciájáról ismert, ami az osteosarcoma gyógyszerrezisztencia mechanizmusainak tanulmányozásához nélkülözhetetlen modellé teszi. A KHOS-312H sejtvonal egyik jelentős jellemzője, hogy a rákellenes gyógyszerek nagy áteresztőképességű szűrésében is használható. A nagyszabású szűrővizsgálatok során a KHOS-312H-t vegyületek széles skálájával szemben tesztelték, beleértve az FDA által jóváhagyott gyógyszereket és a vizsgálati szereket is. Ezek a vizsgálatok kimutatták, hogy a KHOS-312H különböző fokú érzékenységet és rezisztenciát mutat a rákellenes gyógyszerek különböző osztályaival szemben, ami segít a kutatóknak feltérképezni az osteosarcoma kezelésre adott válaszának molekuláris tájképét. Különösen a sejtvonal mTOR-gátlókkal szembeni rezisztenciája került kiemelésre, ami arra utal, hogy e kihívás leküzdéséhez kombinált terápiákra vagy új szerekre lehet szükség.
Organism	Emberi
Tissue	Csont
Disease	Osteosarcoma
Synonyms	KHOS-321H, KHOS312H, KHOS321H

Jellemzők

Age	13 év
Gender	Női
Ethnicity	Kaukázusi
Morphology	Fibroblaszt-szerű
Growth properties	Monoréteg, tapadó

Szabályozási adatok

Product sheet

KHOS-312H sejtek | 300447

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

Biomolekuláris adatok

Tumorigenic	Nem

A kezelése

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)
Supplements	A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Seeding density	1×10^{4} sejt/cm^2
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Post-Thaw Recovery	Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^{4} sejt/cm^2 sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

KHOS-312H sejtek | 300447

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.
HLA allélok	**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