Product sheet

KHOS-312H ląstelės | 300447

Bendra informacija

Description	KHOS-312H yra žmogaus osteosarkomos ląstelių linija, gauta iš kaulų vėžio. Ši ląstelių linija priklauso KHOS išvestų osteosarkomų modelių grupei, kuriai, be kita ko, priklauso KHOSNP ir KHOS-240S. Kaip ir kitos osteosarkomos ląstelių linijos, KHOS-312H plačiai naudojama vėžio tyrimams, siekiant ištirti osteosarkomų biologiją, ypač jų genetines ir molekulines savybes, ir įvertinti galimus gydomuosius preparatus. KHOS-312H ląstelių linija pasižymi atsparumu tam tikriems tiksliniams kinazių inhibitoriams, pavyzdžiui, veikiantiems PI3K-Akt-mTOR kelią, todėl ji yra svarbus modelis osteosarkomos atsparumo vaistams mechanizmams tirti. Viena iš svarbių KHOS-312H ląstelių linijos ypatybių - jos naudingumas atliekant didelės apimties vaistų nuo vėžio atranką. Atliekant plataus masto atrankinius tyrimus, KHOS-312H buvo išbandyta su daugeliu junginių, įskaitant FDA patvirtintus vaistus ir tiriamuosius preparatus. Šie tyrimai atskleidė, kad KHOS-312H pasižymi skirtingu jautrumu ir atsparumu skirtingoms priešvėžinių vaistų klasėms, o tai padeda mokslininkams sudaryti osteosarkomos atsako į gydymą molekulinį žemėlapį. Ypač išryškėjo šios ląstelių linijos atsparumas mTOR inhibitoriams, o tai rodo, kad šiam iššūkiui įveikti gali prireikti kombinuotosios terapijos arba naujų vaistų.
Organism	Žmogus
Tissue	Kaulas
Disease	Osteosarkoma
Synonyms	KHOS-321H, KHOS312H, KHOS321H

Charakteristikos

Age	13 metų
Gender	Moteris
Ethnicity	Kaukaziečių
Morphology	Į fibroblastus panašus
Growth properties	Viensluoksnis, prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	KHOS-312H (Cytion katalogo numeris 300447)
Biosafety level	1

KHOS-312H ląstelės | 300447

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2545

Biomolekuliniai duomenys

Tumorigenic	Ne

Tvarkymas

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Seeding density	1 x 10^4 ląstelės/cm^2
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Post-Thaw Recovery	Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5 x 10^4 ląstelių/cm^2 tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

KHOS-312H ląstelės | 300447

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.
HLA aleliai	**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