

KHOS-240S elementai | 300433**Bendra informacija****Description**

KHOS-240S yra osteosarkomos ląstelių linija, gauta iš žmogaus kaulų sarkomos audinio. Ši ląstelių linija ir jos variantai buvo plačiai naudojami osteosarkomos, pirminio piktybinio kaulų naviko, kuriuo dažniausiai serga vaikai ir jauni suaugusieji, tyrimams. Osteosarkomai būdinga tai, kad piktybinės ląstelės gamina nesubrendusį kaulą (osteoidą), ir ji garsėja agresyvumu bei galimybe anksti metastazuoti, ypač į plaučius.

KHOS-240S ląstelių linija yra atspari keliems kinazių inhibitoriams, įskaitant tuos, kurie veikia PI3K-Akt-mTOR kelią. Dėl šio atsparumo įprastiems terapiniams taikiniams KHOS-240S yra ypač vertinga tiriant osteosarkomos atsparumo vaistams mechanizmus ir alternatyvias gydymo strategijas. Mokslininkai šią ląstelių liniją naudojo įvairiems onkologiniams vaistams ir tiriamiesiems preparatams tirti, todėl buvo nustatyti junginiai, kurie potencialiai galėtų įveikti atsparumo mechanizmus. Atliekant tyrimus su KHOS-240S ypač svarbus genų, susijusių su atsparumu vaistams ir osteosarkomos biologija, pavyzdžiui, dalyvaujančių mTOR signaliniame kelyje, raiškos profilis.

Be to, KHOS-240S buvo naudojamas tiriant mikro RNR raiškos modelius, kurie gali būti susiję su jautrumu vaistams arba atsparumu jiems. Šios ląstelių linijos specifinis atsparumas PI3K-Akt-mTOR kelio inhibitoriams yra esminis modelis, padedantis suprasti, kaip osteosarkomos gali išvengti tikslinių gydymo metodų, ir suteikia pagrindą kurti naujus terapinius metodus, kurie galėtų padidinti atsparių osteosarkomų potipių gydymo veiksmingumą.

Organism Žmogus**Tissue** Kaulas**Disease** Osteosarkoma**Synonyms** KHOS240S**Charakteristikos****Age** 13 metų**Gender** Moteris**Ethnicity** Kaukaziečių**Morphology** Į fibroblastus panašus**Growth properties** Viensluoksnis, prigludęs**Reguliavimo duomenys**

KHOS-240S elementai | 300433**Citation** KHOS-240S (Cytion katalogo numeris 300433)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2544**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** 1×10^4 ląstelės/cm²**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Post-Thaw Recovery** Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5×10^4 ląstelių/cm² 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-240S elementai | 300433

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 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

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.

KHOS-240S elementai | 300433

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 skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

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