

KHOS-312H šūnas | 300447

Vispārīga informācija

Description

KHOS-312H ir cilvēka osteosarkomas šūnu līnija, kas iegūta no kaulu vēža. Šī šūnu līnija ir daļa no KHOS atvasinātu osteosarkomu modeļu grupas, kurā cita starpā ietilpst KHOSNP un KHOS-240S. Tāpat kā citas osteosarkomu šūnu līnijas, arī KHOS-312H tiek plaši izmantota vēža pētījumos, lai pētītu osteosarkomu bioloģiju, jo īpaši to ģenētiskās un molekulārās īpašības, un novērtētu potenciālos terapeitiskos līdzekļus. KHOS-312H šūnu līnija ir pazīstama ar savu rezistenci pret noteiktiem mērķtiecīgiem kināžu inhibitoriem, piemēram, tiem, kas ietekmē PI3K-Akt-mTOR ceļu, padarot to par būtisku modeli osteosarkomas rezistences pret zālēm mehānismu pētīšanai.

Viena no nozīmīgām KHOS-312H šūnu līnijas iezīmēm ir tās lietderība augstas izšķirtspējas pretvēža zāļu skrīningā. Plaša mēroga skrīninga pētījumos KHOS-312H ir pārbaudīta pret plašu savienojumu klāstu, tostarp gan FDA apstiprinātām zālēm, gan pētāmiem līdzekļiem. Šie pētījumi atklāja, ka KHOS-312H uzrāda dažādas jutības un rezistences pakāpes pret dažādām pretvēža zāļu grupām, palīdzot pētniekiem kartēt osteosarkomas reakcijas uz ārstēšanu molekulāro ainavu. Īpaši izcelta šūnu līnijas rezistence pret mTOR inhibitoriem, kas liecina par potenciālu nepieciešamību pēc kombinētas terapijas vai jauniem līdzekļiem, lai pārvarētu šo problēmu.

Organism Cilvēks

Tissue Bone

Disease Osteosarkoma

Synonyms KHOS-321H, KHOS312H, KHOS321H

Raksturojums

Age 13 gadi

Gender Sievietes

Ethnicity Kaukāzietis

Morphology Fibroblastiem līdzīgs

Growth properties Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

Citation KHOS-312H (Cytion kataloga numurs 300447)

KHOS-312H šūnas | 300447

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2545**Biomolekulārie dati****Tumorigenic** Nē**Darbs ar****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Seeding density** 1×10^4 šūnas/cm²**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

KHOS-312H šūnas | 300447**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

KHOS-312H šūnas | 300447

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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