

KHOS-312H Celler | 300447**Generell informasjon****Description**

KHOS-312H er en human osteosarkomcellelinje avledet fra benkreft. Denne cellelinjen er en del av en gruppe KHOS-avlede osteosarkommodeller, som blant annet inkluderer KHOSNP og KHOS-240S. I likhet med andre osteosarkomcellelinjer brukes KHOS-312H i stor utstrekning i kreftforskning for å studere osteosarkomers biologi, særlig deres genetiske og molekylære egenskaper, og for å evaluere potensielle terapeutiske midler. KHOS-312H-cellelinjen er kjent for å være resistent mot visse målrettede kinasehemmere, for eksempel de som påvirker PI3K-Akt-mTOR-stien, noe som gjør den til en viktig modell for å studere resistensmekanismer i osteosarkom.

En av de viktigste egenskapene til KHOS-312H-cellelinjen er at den kan brukes i screening av kreftlegemidler med høy gjennomstrømming. I storskala screeningstudier har KHOS-312H blitt testet mot et bredt spekter av stoffer, inkludert både FDA-godkjente legemidler og legemidler under utprøving. Disse studiene har avdekket at KHOS-312H viser varierende grad av følsomhet og resistens mot ulike klasser av kreftlegemidler, noe som har hjulpet forskerne med å kartlegge det molekylære landskapet for osteosarkoms respons på behandling. Spesielt cellelinjens resistens mot mTOR-hemmere har blitt fremhevet, noe som tyder på et potensielt behov for kombinasjonsbehandlinger eller nye midler for å overvinne denne utfordringen.

Organism

Menneskelig

Tissue

Bein

Disease

Osteosarkom

Synonyms

KHOS-321H, KHOS312H, KHOS321H

Kjennetegn**Age**

13 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Fibroblastlignende

Growth properties

Monolag, vedheftende

Regulatoriske data**Citation**

KHOS-312H (Cytion-katalognummer 300447)

KHOS-312H Celler | 300447**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2545**Biomolekylære data****Tumorigenic** Nei**Håndtering****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO₃, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** Et forhold på 1:3 anbefales**Seeding density** 1×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Post-Thaw Recovery** Etter tining, plasser cellene på 5×10^4 celler/cm² og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optiming, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

KHOS-312H Celler | 300447

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

KHOS-312H Celler | 300447

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 12
D13S317: 12
D16S539: 10,13
D5S818: 13
D7S820: 11,12
TH01: 6
TPOX: 8,11
vWA: 18
D3S1358: 15
D21S11: 31.2,32.2
D18S51: 14,17
Penta E: 7,12
Penta D: 9,10
D8S1179: 11,14
FGA: 24

HLA-alleler

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