

Komórki KHOS-312H | 300447**Informacje ogólne****Description**

KHOS-312H to ludzka linia komórek kostniakomięsaka pochodząca z raka kości. Ta linia komórkowa jest częścią grupy modeli kostniakomięsaka pochodzących od KHOS, która obejmuje między innymi KHOSNP i KHOS-240S. Podobnie jak inne linie komórkowe kostniakomięsaka, KHOS-312H jest szeroko stosowana w badaniach nad rakiem w celu zbadania biologii kostniakomięsaków, w szczególności ich cech genetycznych i molekularnych, oraz oceny potencjalnych środków terapeutycznych. Linia komórkowa KHOS-312H jest znana ze swojej oporności na niektóre ukierunkowane inhibitory kinaz, takie jak te wpływające na szlak PI3K-Akt-mTOR, co czyni ją niezbędnym modelem do badania mechanizmów oporności na leki w kostniakomięsaku.

Jedną z istotnych cech linii komórkowej KHOS-312H jest jej użyteczność w wysokoprzepustowych badaniach przesiewowych leków przeciwnowotworowych. W badaniach przesiewowych na dużą skalę, KHOS-312H został przetestowany przeciwko szerokiej gamie związków, w tym zarówno leków zatwierdzonych przez FDA, jak i badanych środków. Badania te ujawniły, że KHOS-312H wykazuje różny stopień wrażliwości i oporności na różne klasy leków przeciwnowotworowych, pomagając naukowcom w mapowaniu molekularnego krajobrazu odpowiedzi kostniakomięsaka na leczenie. W szczególności podkreślono oporność linii komórkowej na inhibitory mTOR, co sugeruje potencjalną potrzebę terapii skojarzonych lub nowych leków w celu przezwyciężenia tego wyzwania.

Organism Człowiek**Tissue** Kość**Disease** Mięsak kościopochodny**Synonyms** KHOS-321H, KHOS312H, KHOS321H**Charakterystyka****Age** 13 lat**Gender** Kobieta**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Podobny do fibroblastów**Growth properties** Monowarstwa, przylegająca**Dane regulacyjne**

Komórki KHOS-312H | 300447**Citation** KHOS-312H (numer katalogowy Cytion 300447)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2545**Dane biomolekularne****Tumorigenic** Nie**Obsługa****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS i 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:3**Seeding density** 1×10^4 kom^{órek}/cm²**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Post-Thaw Recovery** Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć do podłoża.**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

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

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki KHOS-312H | 300447**Shipping Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

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

Allele HLA

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