

Ogniwa KHOS-240S | 300433

Informacje ogólne

Description

KHOS-240S to linia komórkowa kostniakomięsaka pochodząca z ludzkiej tkanki mięsaka kości. Ta linia komórkowa, wraz z jej wariantami, była szeroko stosowana w badaniach nad kostniakomięsakiem, pierwotnym złośliwym nowotworem kości, który dotyka głównie dzieci i młodych dorosłych. Kostniakomięsak charakteryzuje się wytwarzaniem niedojrzałej kości (osteoidu) przez złośliwe komórki i jest znany ze swojego agresywnego zachowania i możliwości wczesnych przerzutów, szczególnie do płuc.

Linia komórkowa KHOS-240S jest oporna na kilka inhibitorów kinaz, w tym te ukierunkowane na szlak PI3K-Akt-mTOR. Ta oporność na powszechne cele terapeutyczne sprawia, że KHOS-240S jest szczególnie cenny do badania mechanizmów oporności na leki w kostniakomięsaku i badania alternatywnych strategii terapeutycznych. Naukowcy wykorzystali tę linię komórkową do badań przesiewowych różnych leków onkologicznych i badanych środków, co doprowadziło do identyfikacji związków, które mogą potencjalnie przewyciężyć mechanizmy oporności. Profil ekspresji genów związanych z opornością na leki i biologią kostniakomięsaka, takich jak te zaangażowane w szlak sygnałowy mTOR, jest szczególnie interesujący w badaniach wykorzystujących KHOS-240S.

Co więcej, KHOS-240S został wykorzystany do badania wzorców ekspresji mikroRNA, które mogą korelować z wrażliwością lub opornością na leki. Specyficzna oporność tej linii komórkowej na inhibitory szlaku PI3K-Akt-mTOR stanowi niezbędny model do zrozumienia, w jaki sposób kostniakomięsaki mogą unikać terapii celowanych i stanowi podstawę do opracowania nowych podejść terapeutycznych, które mogłyby zwiększyć skuteczność leczenia opornych podtypów kostniakomięsaków.

Organism	Człowiek
Tissue	Kość
Disease	Mięsak kościopochodny
Synonyms	KHOS240S

Charakterystyka

Age	13 lat
Gender	Kobieta
Ethnicity	Kaukaski
Morphology	Podobny do fibroblastów
Growth properties	Monowarstwa, przylegająca

Ogniwa KHOS-240S | 300433

Dane regulacyjne

Citation	KHOS-240S (numer katalogowy Cytion 300433)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2544

Dane biomolekularne

Tumorigenic	Nie
--------------------	-----

Obsługa

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 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 1:4
Seeding density	1×10^4 kom ^{órek} /cm ²
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm ² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć do podłoża.

Ogniwa KHOS-240S | 300433

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.

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 zawiesinowych, 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

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Ogniwa KHOS-240S | 300433

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 cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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 wykluczone 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: 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

Ogniwa KHOS-240S | 300433

Allele HLA

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