

**Células KHOS-312H | 300447****Informações gerais****Description**

KHOS-312H é uma linha celular de osteossarcoma humano derivada de cancro ósseo. Esta linha celular faz parte de um grupo de modelos de osteossarcoma derivados de KHOS, que inclui KHOSNP e KHOS-240S, entre outros. Tal como outras linhas celulares de osteossarcoma, a KHOS-312H é amplamente utilizada na investigação do cancro para estudar a biologia dos osteossarcomas, nomeadamente as suas características genéticas e moleculares, e para avaliar potenciais agentes terapêuticos. A linha celular KHOS-312H é conhecida pela sua resistência a certos inibidores de cinase específicos, como os que afectam a via PI3K-Akt-mTOR, o que a torna um modelo essencial para o estudo dos mecanismos de resistência aos medicamentos no osteossarcoma.

Uma das características significativas da linha celular KHOS-312H é a sua utilidade no rastreio de elevado rendimento de medicamentos anticancerígenos. Em estudos de rastreio em grande escala, a KHOS-312H foi testada contra uma vasta gama de compostos, incluindo tanto medicamentos aprovados pela FDA como agentes de investigação. Estes estudos revelaram que a KHOS-312H apresenta diferentes graus de sensibilidade e resistência a diferentes classes de fármacos anticancerígenos, ajudando os investigadores a mapear a paisagem molecular da resposta do osteossarcoma ao tratamento. Nomeadamente, a resistência da linha celular aos inibidores do mTOR foi particularmente destacada, sugerindo uma potencial necessidade de terapias combinadas ou de novos agentes para ultrapassar este desafio.

**Organism** Humano**Tissue** Osso**Disease** Osteossarcoma**Synonyms** KHOS-321H, KHOS312H, KHOS321H**Caraterísticas****Age** 13 anos**Gender** Feminino**Ethnicity** Caucasiano**Morphology** Tipo fibroblastos**Growth properties** Monocamada, aderente**Dados regulamentares**

**Células KHOS-312H | 300447****Citation** KHOS-312H (número de catálogo Cytion 300447)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_2545**Dados biomoleculares****Tumorigenic** Não**Manuseamento****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Post-Thaw Recovery** Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de  $5 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## Células KHOS-312H | 300447

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células KHOS-312H | 300447

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

### Alelos 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