

Bunky KHOS-240S | 300433**Všeobecné informácie****Description**

KHOS-240S je osteosarkómová bunková línia odvodená z ľudského kostného sarkómového tkaniva. Táto bunková línia spolu s jej variantmi sa vo veľkej miere používa vo výskume zameranom na osteosarkóm, primárny zhubný kostný nádor, ktorý postihuje prevažne deti a mladých dospelých. Osteosarkóm je charakterizovaný produkciou nezrelých kostných buniek (osteoidu) a je známy svojím agresívnym správaním a potenciálom skorého metastázovania, najmä do pľúc.

Bunková línia KHOS-240S je rezistentná voči viacerým inhibítorm kináz vrátane tých, ktoré sú zamerané na dráhu PI3K-Akt-mTOR. Vďaka tejto rezistencii na bežné terapeutické ciele je KHOS-240S mimoriadne cenná na štúdiu mechanizmov rezistencie na lieky u osteosarkómu a skúmanie alternatívnych terapeutických stratégií. Výskumníci použili túto bunkovú líniu na skrining rôznych onkologických liekov a skúmaných látok, čo viedlo k identifikácii zlúčenín, ktoré by potenciálne mohli prekonať mechanizmy rezistencie. V štúdiách využívajúcich KHOS-240S je obzvlášť zaujímavý profil expresie génov spojených s rezistenciou na lieky a biológiou osteosarkómu, napríklad génov zapojených do signálnej dráhy mTOR.

Okrem toho sa KHOS-240S využíva pri skúmaní vzorcov expresie mikroRNA, ktoré môžu korelovať s citlivosťou alebo rezistenciou na lieky. Špecifická rezistencia tejto bunkovej línie na inhibítory dráhy PI3K-Akt-mTOR poskytuje základný model na pochopenie toho, ako sa osteosarkómy môžu vyhýbať cielej liečbe, a ponúka základ pre vývoj nových terapeutických prístupov, ktoré by mohli zvýšiť účinnosť liečby rezistentných podtypov osteosarkómov.

Organism Ľudské**Tissue** Kosti**Disease** Osteosarkóm**Synonyms** KHOS240S**Charakteristika****Age** 13 rokov**Gender** Ženy**Ethnicity** Kaukazský**Morphology** Fibroblastom podobné**Growth properties** Monovrstva, priliehajúca

Bunky KHOS-240S | 300433**Regulačné údaje****Citation** KHOS-240S (katalógové číslo Cytion 300433)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2544**Biomolekulárne údaje****Tumorigenic** Nie**Spracovanie****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)**Supplements** Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Seeding density** 1×10^4 buniek/cm²**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5×10^4 buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

Bunky KHOS-240S | 300433

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Bunky KHOS-240S | 300433

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Alely 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