

**KHOS-312H celice | 300447****Splošne informacije****Description**

KHOS-312H je celična linija človeškega osteosarkoma, ki izhaja iz kostnega raka. Ta celična linija je del skupine modelov osteosarkomov, ki izhajajo iz KHOS, kamor med drugim spadata KHOSNP in KHOS-240S. Tako kot druge celične linije osteosarkoma se tudi KHOS-312H pogosto uporablja v raziskavah raka za preučevanje biologije osteosarkomov, zlasti njihovih genetskih in molekularnih značilnosti, ter za ocenjevanje potencialnih terapevtskih sredstev. Celična linija KHOS-312H je znana po svoji odpornosti na nekatere ciljne inhibitorje kinaz, kot so tisti, ki vplivajo na pot PI3K-Akt-mTOR, zato je pomemben model za preučevanje mehanizmov odpornosti na zdravila pri osteosarkomu.

Ena od pomembnih značilnosti celične linije KHOS-312H je njena uporabnost pri visoko zmogljivem presejanju zdravil proti raku. V obsežnih presejalnih študijah je bila linija KHOS-312H preizkušena proti širokemu naboru spojin, vključno z zdravili, ki jih je odobrila FDA, in raziskovalnimi sredstvi. Te študije so pokazale, da ima KHOS-312H različne stopnje občutljivosti in odpornosti na različne razrede zdravil proti raku, kar raziskovalcem pomaga pri kartiranju molekularne pokrajine odziva osteosarkoma na zdravljenje. Zlasti je bila izpostavljena odpornost celične linije na zaviralce mTOR, kar kaže na morebitno potrebo po kombiniranih terapijah ali novih zdravilih za premagovanje tega izziva.

**Organism** Človek**Tissue** Kosti**Disease** Osteosarkom**Synonyms** KHOS-321H, KHOS312H, KHOS321H**Značilnosti****Age** 13 let**Gender** Ženske**Ethnicity** Kavkaški**Morphology** Fibroblastom podobni**Growth properties** Enoslojni, adherentni**Regulativni podatki****Citation** KHOS-312H (Cytionova kataloška številka 300447)

**KHOS-312H celice | 300447****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_2545**Biomolekularni podatki****Tumorigenic** Ne**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  celic/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Post-Thaw Recovery** Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti  $5 \times 10^4$  cel<sup>ic</sup>/cm<sup>2</sup> in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataložka številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

## KHOS-312H celice | 300447

### Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri  $300 \times g$  3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , vlažno ozračje.

### Flask Coating

Nič

### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

## KHOS-312H celice | 300447

### Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

## Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

### Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

### Aleli 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