Product sheet

Комірка KHOS-312H | 300447

Загальна інформація

Description	KHOS-312H - це клітинна лінія остеосаркоми людини, отримана з раку кісток. Ця клітинна лінія є частиною групи моделей остеосаркоми, отриманих на основі KHOS, до якої входять, зокрема, KHOSNP та KHOS-240S. Як і інші клітинні лінії остеосаркоми, KHOS-312H широко використовується в онкологічних дослідженнях для вивчення біології остеосаркоми, зокрема її генетичних і молекулярних характеристик, а також для оцінки потенційних терапевтичних агентів. Клітинна лінія KHOS-312H відома своєю стійкістю до певних таргетних інгібіторів кіназ, зокрема тих, що впливають на шлях PI3K-Akt-mTOR, що робить її важливою моделлю для вивчення механізмів лікарської резистентності при остеосаркомі. Однією з важливих особливостей клітинної лінії KHOS-312H є її корисність у високопродуктивному скринінгу протиракових препаратів. У широкомасштабних скринінгових дослідженнях KHOS-312H була протестована проти широкого спектру сполук, включаючи як схвалені FDA препарати, так і досліджувані агенти. Ці дослідження показали, що KHOS-312H демонструє різний ступінь чутливості та резистентності до різних класів протипухлинних препаратів, допомагаючи дослідникам скласти карту молекулярного ландшафту відповіді остеосаркоми на лікування. Зокрема, було особливо підкреслено стійкість клітинної лінії до інгібіторів mTOR, що вказує на потенційну потребу в комбінованій терапії або нових агентах для подолання цієї проблеми.
Organism	Людина
Tissue	Кость
Disease	Остеосаркома
Synonyms	KHOS-321H, KHOS312H, KHOS321H

Характеристики

Age	13 років
Gender	Жінка
Ethnicity	Кавказець
Morphology	Фібробластоподібні
Growth properties	Одношаровий, адгезійний

Нормативні дані

Product sheet

Комірка KHOS-312H | 300447

Citation	KHOS-312H (каталожний номер 300447)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2545

Біомолекулярні дані

Tumorigenic	Hi

Обробка

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 мМ L-глутамін, w: 2,2 г/л NaHCO3, w: EBSS (цит. номер 820100a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS та 1% NEAA
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Seeding density	1×10^{4} клітин/см2
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Post-Thaw Recovery	Після розморожування висійте клітини з щільністю 5×10^{4} клітин/см2 і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Комірка KHOS-312H | 300447

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.

7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.

8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Комірка KHOS-312H | 300447

Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.
HLA алелі	**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