Product sheet

Клетки KHOS-NP | 300235

Обща информация

Description	KHOS-NP е клетъчна линия, получена от клетъчната линия HOS чрез трансформация с мишия сарком вирус Kirsten (Ki-MSV). Процесът на трансформация е довел до получаването на силно туморогенна клетъчна линия, която се характеризира с няколко отличителни свойства, което я прави ценна за специфични изследователски приложения. KHOS-NP клетките са особено полезни за производството на MSV псевдотипове с различни екотропни и ксенотропни миши левкемични вируси, което е от интерес за изследвания, фокусирани върху вирусната репликация, онкогенезата и свързаните с тях пътища. KHOS-NP клетките проявяват адхезивни свойства на растеж и са получени от костната тъкан на бяла възрастна жена. Клетките носят генома Ki-MSV, но не произвеждат инфекциозни вирусни частици или вирусни антигени, което ги прави безопасни за определени in vitro изследователски условия, при които производството на инфекциозни вируси би било проблем. Въпреки това, KHOS-NP клетките поддържат висока плътност на насищане и имат висока ефективност на плакиране в мек агар, демонстрирайки силни пролиферативни и независими от закрепване характеристики на растеж, които са типични за трансформирани и туморогенни клетъчни линии. In vivo, KHOS-NP клетките са силно туморогенни, с 100% честота на туморно образуване, наблюдавана при голи мишки в рамките на 21 дни след инокулация, когато са инжектирани подкожно с 10^7 клетки. Тези свойства правят клетъчната линия KHOS-NP ценен модел за изучаване на развитието на саркома, туморната биология и молекулярните механизми, лежащи в основата на онкогенезата. Въпреки това, важно е да се отбележи, че KHOS-NP клетките не са подходящи за терапевтични или in vivo приложения и тяхното използване трябва да се ограничи до контролирани експериментални условия в изследователска среда.
Organism	Човек
Tissue	Bone
Disease	Остеосарком
Synonyms	KHOS/NP, KHOS NP, KHOSNP, R-970-5, KHOS

Характеристики

Age	13 години
Gender	Жена
Ethnicity	Кавказки
Morphology	Подобни на фибробласти

Клетки KHOS-NP | 300235

Growth properties	Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation	KHOS-NP (каталожен номер 300235 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2546

Биомолекулярни данни

Tumorigenic	Да, при голи мишки.

Работа с

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	2 x 10^4 клетки/см2
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5 x 10^4 клетки/cm^2 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Клетки KHOS-NP | 300235

Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.
Thawing and Culturing Cells	1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането. 2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране. 3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка. 4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол. 5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно. 6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда. 7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките. 8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.
Flask Coating	Няма

Клетки KHOS-NP | 300235

Freezing Procedure	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.