Product sheet

Buňky KHOS-NP | 300235

Obecné informace

Description	KHOS-NP je buněčná linie odvozená od buněčné linie HOS transformací myším sarkomovým virem Kirsten (Ki-MSV). Výsledkem transformačního procesu je vysoce tumorigenní buněčná linie, která se vyznačuje několika charakteristickými vlastnostmi, díky nimž je cenná pro specifické výzkumné aplikace. Buňky KHOS-NP jsou zejména užitečné pro produkci pseudotypů MSV s různými ekotropními a xenotropními myšími leukemickými viry, což je zajímavé pro studie zaměřené na replikaci virů, onkogenezi a související procesy. Buňky KHOS-NP vykazují adhezivní růstové vlastnosti a jsou odvozeny z kostní tkáně dospělé bílé samice. Buňky nesou genom Ki-MSV, ale neprodukují infekční virové částice ani virové antigeny, což je činí bezpečnými pro určitá in vitro výzkumná prostředí, kde by produkce infekčních virů mohla být problémem. Navzdory tomu si buňky KHOS-NP zachovávají vysokou saturační hustotu a mají vysokou účinnost při kultivaci v měkkém agaru, což dokazuje jejich robustní proliferační a kotevně nezávislé růstové vlastnosti, které jsou typické pro transformované a tumorigenní buněčné linie. In vivo jsou buňky KHOS-NP vysoce tumorigenní, s 100% frekvencí tvorby nádorů pozorovanou u nahých myší do 21 dnů po inokulaci při subkutánní injekci 10^7 buněk. Tyto vlastnosti činí buněčnou linii KHOS-NP cenným modelem pro studium vývoje sarkomů, biologie nádorů a molekulárních mechanismů onkogeneze. Je však důležité poznamenat, že buňky KHOS-NP nejsou vhodné pro terapeutické nebo in vivo aplikace a jejich použití by mělo být omezeno na kontrolované experimentální podmínky ve výzkumném prostředí.
Organism	Člověk
Tissue	Kost
Disease	Osteosarkom
Synonyms	KHOS/NP, KHOS NP, KHOSNP, R-970-5, KHOS

Charakteristika

Age	13 let
Gender	Ženy
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Fibroblastům podobné
Growth properties	Monovrstva, adherentní

Regulační údaje

Buňky KHOS-NP | 300235

Citation	KHOS-NP (katalogové číslo Cytion 300235)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2546

Biomolekulární data

Tumorigenic	Ano, na nahých myších.

Zpracování

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO3, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:2 až 1:4
Seeding density	2 x 10^4 buněk/cm^2
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste buňky v množství 5 x 10^4 buněk/cm^2 a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky KHOS-NP | 300235

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky KHOS-NP | 300235

Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 12 **D13S317**: 12 **D16S539**: 10,13 **D5S818**: 13 **D7S820**: 11,12 **TH01**: 6 **TPOX**: 8,11 **vWA**: 18 **D3S1358**: 15 **D21S11**: 31.2,32.2 **D18S51**: 17 **Penta E**: 7,12 **Penta D**: 9,10 **D8S1179**: 11,14 **FGA**: 24 **PEZ6**: HROG13