

Κύτταρα KHOS-NP | 300235

Γενικές πληροφορίες

Description

Το KHOS-NP είναι μια κυτταρική σειρά που προέρχεται από την κυτταρική σειρά HOS μέσω μετασχηματισμού με τον ιό Kirsten murine sarcoma virus (Ki-MSV). Η διαδικασία μετασχηματισμού έχει οδηγήσει σε μια κυτταρική σειρά με υψηλή ογκογένεση, η οποία χαρακτηρίζεται από διάφορες διακριτές ιδιότητες, καθιστώντας την πολύτιμη για συγκεκριμένες ερευνητικές εφαρμογές. Συγκεκριμένα, τα κύτταρα KHOS-NP είναι ιδιαίτερα χρήσιμα για την παραγωγή ψευδοτύπων MSV με διάφορους εκτροπικούς και ξενοτροπικούς ιούς λευχαιμίας ποντικού, κάτι που παρουσιάζει ενδιαφέρον σε μελέτες που εστιάζουν στην ιική αναπαραγωγή, την ογκογένεση και τις σχετικές οδούς.

Τα κύτταρα KHOS-NP εμφανίζουν ιδιότητες προσκολλητικής ανάπτυξης και προέρχονται από τον οστικό ιστό μιας λευκής, ενήλικης γυναίκας. Τα κύτταρα φέρουν το γονιδίωμα Ki-MSV, αλλά δεν παράγουν μολυσματικά ιικά σωματίδια ή ιικά αντιγόνα, γεγονός που τα καθιστά ασφαλή για ορισμένες συνθήκες έρευνας in vitro όπου η παραγωγή μολυσματικών ιών θα αποτελούσε πρόβλημα. Παρ' όλα αυτά, τα κύτταρα KHOS-NP διατηρούν υψηλή πυκνότητα κορεσμού και έχουν υψηλή απόδοση επιχρίσματος σε μαλακό άγαρ, επιδεικνύοντας ισχυρά χαρακτηριστικά πολλαπλασιαστικής και ανεξάρτητης από την πρόσφυση ανάπτυξης, τα οποία είναι τυπικά των μετασχηματισμένων και ογκογόνων κυτταρικών σειρών.

In vivo, τα κύτταρα KHOS-NP είναι εξαιρετικά ογκογόνα, με συχνότητα σχηματισμού όγκων 100% που παρατηρήθηκε σε γυμνά ποντίκια εντός 21 ημερών μετά την εμβολιασμό, όταν εγχύθηκαν υποδόρια 10^7 κύτταρα. Αυτές οι ιδιότητες καθιστούν τη κυτταρική σειρά KHOS-NP ένα πολύτιμο μοντέλο για τη μελέτη της ανάπτυξης σαρκόματος, της βιολογίας των όγκων και των μοριακών μηχανισμών που υποκείμεθα στην ογκογένεση. Ωστόσο, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι τα κύτταρα KHOS-NP δεν είναι κατάλληλα για θεραπευτικές ή in vivo εφαρμογές και η χρήση τους πρέπει να περιορίζεται σε ελεγχόμενες πειραματικές συνθήκες σε ερευνητικό περιβάλλον.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Οστά

Disease

Οστεοσάρκωμα

Synonyms

KHOS/NP, KHOS NP, KHOSNP, R-970-5, KHOS

Χαρακτηριστικά

Age

13 χρόνια

Gender

Γυναίκα

Ethnicity

Καυκάσιος

Morphology

Ινοβλάστες που μοιάζουν με ινοβλάστες

Κύτταρα KHOS-NP | 300235

Growth properties Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation KHOS-NP (αριθμός καταλόγου Cytion 300235)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2546

Βιομοριακά δεδομένα

Tumorigenic Ναι, σε γυμνά ποντίκια.

Χειρισμός

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Seeding density 2×10^4 κύτταρα/cm²

Fluid renewal 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Post-Thaw Recovery Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5×10^4 κύτταρα/cm² και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.

Κύτταρα KHOS-NP | 300235**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Κύτταρα KHOS-NP | 300235

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.