

KHOS-NP rakud | 300235

Üldine teave

Description

KHOS-NP on rakuliin, mis on saadud HOS-rakuliinist Kirsteni hiire sarkoomiviiruse (Ki-MSV) abil transformatsiooni teel. Transformatsiooni tulemusena on saadud väga tuumorigeenne rakuliin, millel on mitmeid eristavaid omadusi, mis muudavad selle väärtuslikuks konkreetsete teadusuuringute jaoks. Eelkõige on KHOS-NP rakud eriti kasulikud MSV pseudotüüpide tootmiseks mitmesuguste ekotroopsete ja ksenotroopsete hiire leukeemia viirustega, mis on huvipakkuv viirusliku replikatsiooni, onkogeneesi ja nendega seotud protsesside uurimisel.

KHOS-NP rakud näitavad adhesiivseid kasvomadusi ja on saadud valge täiskasvanud naise luukudedest. Rakud kannavad Ki-MSV genoomi, kuid ei tooda nakkavaid viirusosakesi ega viirusantigene, mistõttu on need ohutud teatud in vitro uurimistingimustes, kus nakkavate viiruste tootmine oleks probleemiks. Sellest hoolimata säilitavad KHOS-NP rakud kõrge küllastustiheduse ja neil on kõrge plaadistamise efektiivsus pehmes agaris, mis näitab tugevaid proliferatiivseid ja kinnitumistest sõltumataid kasvutunnuseid, mis on tüüpilised transformatsioonilistele ja tuumorigeensetele rakuliinidele.

In vivo on KHOS-NP rakud väga tuumorigeenised, 100% tuumorite tekkimise sagedusega, mis on täheldatud alasti hiirtel 21 päeva jooksul pärast nakatumist, kui neile süstiti naha alla 10^7 rakku. Need omadused muudavad KHOS-NP rakuliini väärtuslikuks mudeliks sarkoomi arengu, tuumoribioloogia ja onkogeneesi molekulaarmehhanismide uurimiseks. Siiski on oluline märkida, et KHOS-NP rakud ei sobi terapeutiliseks või in vivo rakendamiseks ning nende kasutamine peaks piirduma kontrollitud eksperimentaalsete tingimustega teadusuuringute keskkonnas.

Organism Inimene

Tissue Bone

Disease Osteosarkoom

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

Omadused

Age 13 aastat

Gender Naised

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Fibroblastilaadsed

Growth properties Monokihiline, kleepuv

KHOS-NP rakud | 300235

Regulatiivsed andmed

Citation	KHOS-NP (Cytioni katalooginumber 300235)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2546

Biomolekulaarsed andmed

Tumorigenic	Jah, alasti hiirtel.
--------------------	----------------------

Töötlemine

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Seeding density	2×10^4 rakku/cm ²
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Post-Thaw Recovery	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm ² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

KHOS-NP rakud | 300235**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

KHOS-NP rakud | 300235

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.