

## 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

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

## Biomolekulaarsed andmed

<b>Tumorigenic</b>	Jah, alasti hiirtel.
--------------------	----------------------

## Töötlemine

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
<b>Supplements</b>	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	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.
<b>Seeding density</b>	$2 \times 10^4$ rakku/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 kuni 3 korda nädalas
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega $5 \times 10^4$ rakku/cm <sup>2</sup> ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.
<b>Freeze medium</b>	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 vial 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 vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x 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%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

### Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

### 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.