Product sheet

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 viirusantigeene, 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 sõltumatuid kasvutunnuseid, mis on tüüpilised transformatsioonilistele ja tuumorigeensetele rakuliinidele. In vivo on KHOS-NP rakud väga tuumorigeensed, 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

Product sheet

KHOS-NP rakud | 300235

Regulatiivsed andmed

Citation	KHOS-NP (Cytioni kataloginumber 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 NaHCO3, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt 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 $5 \times 10^{4\ \text{rakku}}/cm^2$ 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 kataloginumber 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 viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °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 viaali 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. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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°C, 5% $_{CO2}$, 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 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

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 ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.