

KHOS-NP-solut | 300235

Yleisiä tietoja

Description

KHOS-NP on solulinja, joka on johdettu HOS-solulinjasta Kirsten-hiirensarkoomaviruksen (Ki-MSV) avulla. Muuntamisprosessin tuloksena on syntynyt erittäin tuumorigeeninen solulinja, jolla on useita erityispiirteitä, jotka tekevät siitä arvokkaan tiettyihin tutkimussovelluksiin. KHOS-NP-solut ovat erityisen hyödyllisiä MSV-pseudotyypin tuottamisessa erilaisilla ekotrooppisilla ja ksenotrooppisilla hiiren leukemiaviruksilla, mikä on kiinnostavaa viruksen replikaatiota, onkogeneesiä ja niihin liittyviä reittejä koskevissa tutkimuksissa.

KHOS-NP-solut ovat adheesiivisiä ja ovat peräisin valkoisen aikuisen naisen luukudoksesta. Solut kantavat Ki-MSV-genomia, mutta eivät tuota tarttuvia viruspartikkeleita tai virusantigeenejä, mikä tekee niistä turvallisia tietyissä in vitro -tutkimusolosuhteissa, joissa tarttuvien virusten tuotanto olisi ongelmallista. Tästä huolimatta KHOS-NP-solut säilyttävät korkean saturaatiotilheyden ja niillä on korkea levitystehokkuus pehmeässä agarissa, mikä osoittaa niiden olevan voimakkaasti proliferoivia ja kiinnittymisriippumattomia, mikä on tyypillistä transformoiduille ja tuumorigeenisille solulinjoille.

In vivo KHOS-NP-solut ovat erittäin tuumorigeenisia, ja 10^7 solua ihonalaisesti injektoituina ne aiheuttavat 100 %:n tuumorinmuodostusfrekvenssin alastomissa hiirissä 21 päivän kuluessa inokulaatiosta. Nämä ominaisuudet tekevät KHOS-NP-solulinjasta arvokkaan mallin sarkooman kehittymisen, tuumoribiologian ja onkogeneesin taustalla olevien molekyylimekanismien tutkimiseen. On kuitenkin tärkeää huomata, että KHOS-NP-solut eivät sovellu terapeuttisiin tai in vivo -sovelluksiin, ja niiden käyttö tulisi rajoittaa kontrolloituihin kokeellisiin olosuhteisiin tutkimusympäristössä.

Organism

Ihminen

Tissue

Luu

Disease

Osteosarkooma

Synonyms

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

Ominaisuudet

Age

13 vuotta

Gender

Nainen

Ethnicity

Kaukasialainen

Morphology

Fibroblastien kaltaiset

Growth properties

Yksikerroksinen, tarttuva

KHOS-NP-solut | 300235

Säätelytiedot

Citation	KHOS-NP (Cytionin luettelonumero 300235)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2546

Biomolekyyli tiedot

Tumorigenic	Kyllä, alastomilla hiirillä.
--------------------	------------------------------

Käsittely

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Seeding density	2×10^4 solua/cm ²
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Post-Thaw Recovery	Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm ² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

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

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

KHOS-NP-solut | 300235

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.