

## 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

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

## Biomolekyyli tiedot

<b>Tumorigenic</b>	Kyllä, alastomilla hiirillä.
--------------------	------------------------------

## Käsittely

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)
<b>Supplements</b>	Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	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.
<b>Seeding density</b>	$2 \times 10^4$ solua/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2-3 kertaa viikossa
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Sulattamisen jälkeen levitä solut $5 \times 10^4$ solua/cm <sup>2</sup> 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 kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädystä 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  $300\text{ x g}$ :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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

## KHOS-NP-solut | 300235

### Freezing Procedure

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.

### 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

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

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