Product sheet

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-pseudotyyppien tuottamisessa erilaisilla ekotrooppisilla ja ksenotrooppisilla hiiren leukemiaviruksilla, mikä on kiinnostavaa viruksen replikaatiota, onkogeneesiä ja niihin liittyviä reittejä koskevissa tutkimuksissa. KHOS-NP-solut ovat adheesiivisia 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 saturaatiotiheyden 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 tuumorigeenisiä, 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

Sääntelytiedot

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

Biomolekyylitiedot

Tumorigenic	Kyllä, alastomilla hiirillä.

Käsittely

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO3, 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 tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Seeding density	2 x 10^4 solua/cm^2
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Post-Thaw Recovery	Sulattamisen jälkeen levitä solut 5 x 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 syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, 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 mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle. 4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella 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 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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 kuivajäässä 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	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.