

Cellule KHOS-NP | 300235

Informazioni generali

Description

KHOS-NP è una linea cellulare derivata dalla linea cellulare HOS attraverso la trasformazione con il virus del sarcoma murino di Kirsten (Ki-MSV). Il processo di trasformazione ha portato alla creazione di una linea cellulare altamente tumorigenica caratterizzata da diverse proprietà distintive, che la rendono preziosa per specifiche applicazioni di ricerca. In particolare, le cellule KHOS-NP sono particolarmente utili per la produzione di pseudotipi MSV con vari virus della leucemia murina ecotropici e xenotropici, che sono di interesse negli studi incentrati sulla replicazione virale, l'oncogenesi e i percorsi correlati.

Le cellule KHOS-NP mostrano proprietà di crescita aderente e sono derivate dal tessuto osseo di una donna adulta di razza bianca. Le cellule sono portatrici del genoma Ki-MSV ma non producono particelle virali infettive o antigeni virali, il che le rende sicure per determinati contesti di ricerca in vitro in cui la produzione di virus infettivi potrebbe essere motivo di preoccupazione. Ciononostante, le cellule KHOS-NP mantengono un'elevata densità di saturazione e hanno un'elevata efficienza di piastratura in agar morbido, dimostrando caratteristiche di crescita proliferativa e indipendente dall'ancoraggio, tipiche delle linee cellulari trasformate e tumorigeniche.

In vivo, le cellule KHOS-NP sono altamente tumorigeniche, con una frequenza di formazione di tumori del 100% osservata nei topi nudi entro 21 giorni dall'inoculazione quando iniettate per via sottocutanea con 10^7 cellule. Queste proprietà rendono la linea cellulare KHOS-NP un modello prezioso per lo studio dello sviluppo del sarcoma, della biologia dei tumori e dei meccanismi molecolari alla base dell'oncogenesi. Tuttavia, è essenziale notare che le cellule KHOS-NP non sono adatte per applicazioni terapeutiche o in vivo e il loro uso dovrebbe essere limitato a condizioni sperimentali controllate in un contesto di ricerca.

Organism Umano

Tissue Osso

Disease Osteosarcoma

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

Caratteristiche

Age 13 anni

Gender Donna

Ethnicity Caucasico

Morphology Simile a un fibroblasto

Growth properties Monostrato, aderente

Cellule KHOS-NP | 300235

Dati normativi

Citation	KHOS-NP (numero di catalogo Cytion 300235)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2546

Dati biomolecolari

Tumorigenic	Sì, in topi nudi.
--------------------	-------------------

Manipolazione

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (articolo Cytion numero 820100a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
Split ratio	Si consiglia un rapporto da 1:2 a 1:4
Seeding density	2×10^4 cellule/cm ²
Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
Post-Thaw Recovery	Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5×10^4 cellule/cm ² e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.

Cellule KHOS-NP | 300235

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Cellule KHOS-NP | 300235

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 12
D13S317: 12
D16S539: 10,13
D5S818: 13
D7S820: 11,12
TH01: 6
TPOX: 8,11
vWA: 18
D3S1358: 15
D21S11: 31.2,32.2
D18S51: 17
Penta E: 7,12
Penta D: 9,10
D8S1179: 11,14
FGA: 24
PEZ6: HROG13