

## KHOS-NP ląstelės | 300235

## Bendra informacija

## Description

KHOS-NP yra ląstelių linija, gauta iš HOS ląstelių linijos transformuojant ją Kirsten pelių sarkomos virusu (Ki-MSV). Transformavimo procesas davė labai tumorigeninę ląstelių liniją, kuri pasižymi keletu išskirtinių savybių, todėl ji yra vertinga konkreitiems moksliniams tyrimams. Pažymėtina, kad KHOS-NP ląstelės yra ypač naudingos gaminant MSV pseudotipus su įvairiais ekotropiniais ir ksenotropiniais pelių leukemijos virusais, kurie yra įdomūs tyrimams, susijusiems su virusų replikacija, onkogeneze ir susijusiais procesais.

KHOS-NP ląstelės pasižymi adheziniu augimu ir yra išgautos iš baltojo suaugusio moters kaulų audinio. Ląstelės turi Ki-MSV genomą, bet neprodukuoja infekcinių virusų dalelių ar virusinių antigenų, todėl jos yra saugios tam tikrose in vitro tyrimų aplinkose, kur infekcinių virusų gamyba būtų problema. Nepaisant to, KHOS-NP ląstelės išlaiko aukštą prisotinimo tankį ir turi aukštą plokštelės efektyvumą minkštoje agar terpėje, demonstruodamos stiprią proliferaciją ir nuo tvirtinimo nepriklausomą augimą, kurie yra būdingi transformuotoms ir tumorigeninėms ląstelių linijoms.

In vivo KHOS-NP ląstelės yra labai tumorigeninės, o 100 % navikų susidarymo dažnis stebimas nuogosiame pelėse per 21 dieną po inokuliacijos, kai po oda įšvirkščiamos  $10^7$  ląstelės. Dėl šių savybių KHOS-NP ląstelių linija yra vertingas modelis sarkomos vystymosi, navikų biologijos ir onkogenezę lemiančių molekulinės mechanizmų tyrimams. Tačiau svarbu pažymėti, kad KHOS-NP ląstelės netinka terapiniam ar in vivo naudojimui, ir jų naudojimas turėtų būti ribojamas kontroliuojamomis eksperimentinėmis sąlygomis mokslinių tyrimų aplinkoje.

**Organism** Žmogus

**Tissue** Kaulas

**Disease** Osteosarkoma

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

## Charakteristikos

**Age** 13 metų

**Gender** Moteris

**Ethnicity** Kaukazičių

**Morphology** | fibroblastus panašus

**Growth properties** Viensluoksnis, prigludęs

## Reguliavimo duomenys

## KHOS-NP ląstelės | 300235

**Citation** KHOS-NP (Cytion katalogo numeris 300235)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_2546

## Biomolekuliniai duomenys

**Tumorigenic** Taip, nuogoms pelėms.

## Tvarkymas

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)

**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

**Seeding density**  $2 \times 10^4$  ląstelės/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę

**Post-Thaw Recovery** Atšildžius, išdėliokite ląsteles  $5 \times 10^4$  ląstelių/cm<sup>2</sup> tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

## KHOS-NP ląstelės | 300235

### Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

### Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## KHOS-NP ląstelės | 300235

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug  $-150$ - $196^{\circ}\text{C}$  temperatūroje. Laikymas  $-80^{\circ}\text{C}$  temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.