

KHOS-NP šūnas | 300235

Vispārīga informācija

Description

KHOS-NP ir šūnu līnija, kas iegūta no HOS šūnu līnijas, transformējot to ar Kirsten peles sarkomas vīrusu (Ki-MSV). Transformācijas procesa rezultātā ir iegūta ļoti tumorigēna šūnu līnija, kurai ir vairākas atšķirīgas īpašības, kas to padara vērtīgu konkrētiem pētniecības mērķiem. Jo īpaši KHOS-NP šūnas ir noderīgas MSV pseidotipu ražošanai ar dažādiem ekotropiskiem un ksenotropiskiem peles leukēmijas vīrusiem, kas ir interesanti pētījumos, kuri vērsti uz vīrusu replikāciju, onkogēnēzi un saistītiem procesiem.

KHOS-NP šūnas uzrāda adhezīvas augšanas īpašības un ir iegūtas no balta, pieaugušas sievietes kaulu audiem. Šūnas nes Ki-MSV genomu, bet neražo infekciozas vīrusu daļiņas vai vīrusu antigēnus, tādējādi padarot tās drošas noteiktos in vitro pētījumu apstākļos, kur infekciozas vīrusu ražošana varētu būt problēma. Neskatoties uz to, KHOS-NP šūnas saglabā augstu piesātinājuma blīvumu un ir augsta plāksņu efektivitāte mīkstā agārā, demonstrējot spēcīgas proliferatīvas un no stiprinājumiem neatkarīgas augšanas īpašības, kas ir tipiskas transformētām un tumorigēnām šūnu līnijām.

In vivo KHOS-NP šūnas ir ļoti tumorigēnas, ar 100 % audzēju veidošanās biežumu, kas novērots kailām pelēm 21 dienu laikā pēc inokulācijas, kad tām subkutāni injicē 10^7 šūnas. Šīs īpašības padara KHOS-NP šūnu līniju par vērtīgu modeli sarkomas attīstības, audzēju bioloģijas un onkogēzes molekulāro mehānismu pētīšanai. Tomēr ir svarīgi atzīmēt, ka KHOS-NP šūnas nav piemērotas terapeitiskai vai in vivo lietošanai, un to lietošana jāierobežo ar kontrolētiem eksperimentāliem apstākļiem pētniecības vidē.

Organism Cilvēks

Tissue Bone

Disease Osteosarkoma

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

Raksturojums

Age 13 gadi

Gender Sievietes

Ethnicity Kaukāzietis

Morphology Fibroblastiem līdzīgs

Growth properties Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

KHOS-NP šūnas | 300235

Citation KHOS-NP (Cytion kataloga numurs 300235)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2546

Biomolekulārie dati

Tumorigenic Jā, kailām pelēm.

Darbs ar

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Seeding density 2×10^4 šūnas/cm²

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Post-Thaw Recovery Pēc atkausēšanas izklaidējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanu un samazinātu krioinducēto stresu.

KHOS-NP šūnas | 300235

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150°C , lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar $300 \times g$ 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78°C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

KHOS-NP šūnas | 300235

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.